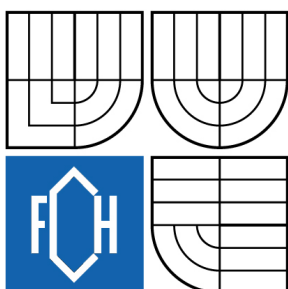


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍHO SPEKTROMETRU A SEPARAČNÍCH TECHNIK K STANOVENÍ RŮZNÝCH FOREM KOVŮ V POTRAVINÁCH

USE OF MASS SPECTROMETRY AND SEPARATION TECHNIQUES FOR DETERMINATION
OF DIFFERENT METAL SPECIES IN FOOD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

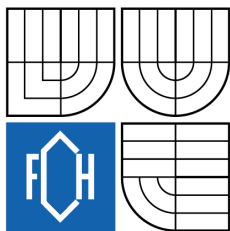
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

SOŇA KŘÍŽOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0354/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Soňa Křížová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí bakalářské práce:	Ing. Pavel Diviš, Ph.D.	
Konzultanti bakalářské práce:		

Název bakalářské práce:

Využití hmotnostního spektrometru a separačních technik
k stanovení různých forem kovů v potravinách

Zadání bakalářské práce:

Zpracovat literární rešerži o možnostech propojení hmotnostního spektrometru s různými separačními technikami pro účely speciální analýzy kovů v potravinách.

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2009

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Soňa Křížová
Student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Práce pojednává o možnostech spojení ICP-MS (hmotnostního detektoru s indukčně vázaným plazmatem) s různými separačními technikami při stanovení různých forem kovů v potravinách. Poskytuje základní informace o instrumentálních analytických technikách a o metodě ICP-MS. Dále uvádí kovy, které jsou v potravinách zastoupeny nejčastěji a způsoby kontaminace potravin těmito kovy. Zabývá se speciální analýzou kovů a různými formami kovů v biologických materiálech.

ABSTRACT

This work deals with combination of ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) and various types of chromatographic separation methods for speciation analysis of metals in foodstuff. The basic information of instrumental analytical techniques and ICP-MS are discussed. The most contained metals in foodstuffs and ways of contamination are developed. Speciation analysis of metals and different forms of metals in biological materials are considered.

KLÍČOVÁ SLOVA

ICP-MS, separační techniky, speciace, kovy, analytické metody, chromatografické separační metody

KEYWORDS

ICP-MS, separation techniques, species, metals, analytical methods, chromatographic separation methods

KŘÍŽOVÁ, S. Využití hmotnostního spektrometru a separačních technik k stanovení různých forem kovů v potravinách. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 51 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Pavlovi Divišovi, Ph.D. za cenné připomínky a odborné rady, kterými přispěl k vypracování této bakalářské práce.

OBSAH

ABSTRAKT.....	2
ABSTRACT.....	2
KLÍČOVÁ SLOVA.....	2
KEYWORDS	2
PROHLÁŠENÍ.....	3
PODĚKOVÁNÍ.....	3
OBSAH	4
1 ÚVOD	6
2 KOVY V POTRAVINÁCH.....	7
2.1 Kontaminace potravin kovy	7
2.1.1 Arsen	7
2.1.2 Olovo	7
2.1.3 Rtuť	7
2.1.4 Kadmium.....	7
2.1.5 Selen	8
2.1.6 Cín	8
2.1.7 Chrom.....	8
2.2 Nejčastěji zastoupené kovy v potravinách	8
2.2.1 Arsen	8
2.2.2 Olovo	9
2.2.3 Rtuť	9
2.2.4 Kadmium.....	9
2.2.5 Selen	10
2.2.6 Cín	10
2.2.7 Chrom.....	10
3 SPECIACE KOVŮ	10
3.1 Speciační analýza	10
3.2 Formy kovů v biologických materiálech a jejich toxické účinky	11
3.2.1 Arsen	12
3.2.2 Olovo	12
3.2.3 Rtuť	12
3.2.4 Cín	13
3.2.5 Selen.....	13
3.2.6 Chrom.....	14
3.2.7 Kadmium.....	15
4 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM ICP-MS	16
4.1 Úvod.....	16
4.2 Princip metody ICP-MS	16
4.2.1 Hlavní části ICP-MS	17
4.2.2 Zavádění vzorku do plazmatu	18
4.2.3 Plazma	19
4.2.4 Generování ICP	19
4.2.5 Produkce iontů v ICP	20

4.2.6	Interface (přechod iontového zdroje k hmotnostnímu spektrometru).....	20
4.2.7	Iontová optika.....	21
4.2.8	Kvadrupólový analyzátor	21
4.2.9	Průchod iontů kvadrupólem	22
4.2.10	Detektor iontů.....	22
4.2.11	Interference.....	22
4.2.12	Způsoby eliminace interferencí	23
5	SEPARAČNÍ TECHNIKY A JEJICH SPOJENÍ S ICP-MS	24
5.1	Plynová chromatografie (GC)	24
5.1.1	Princip GC.....	24
5.1.2	Uspořádání GC	25
5.1.3	Spojení plynové chromatografie s metodou ICP-MS	27
5.2	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC)	28
5.2.1	Princip kapalinové chromatografie (LC).....	28
5.2.2	Princip HPLC	29
5.2.3	Uspořádání HPLC	29
5.2.4	Použití LC a HPLC ve spojení s ICP-MS	32
5.3	Kapilární elektroforéza (CE).....	32
5.3.1	Princip	33
5.4	Kapilární zónová elektroforéza (CZE).....	33
5.5	Kapilární elektrochromatografie (CEC).....	34
5.5.1	Princip	34
5.5.2	Použití CEC.....	34
5.6	Gelová permeační chromatografie (Size Exclusion Chromatography – SEC)	34
5.6.1	Princip	34
5.6.2	Volba gelu a mobilní fáze	35
5.6.3	Použití SEC ve spojení s ICP-MS	36
5.7	Iontově-výměnná chromatografie (IEC)	36
5.7.1	Princip	36
5.7.2	Dělení iontoměničů (ionexů).....	36
5.7.3	Použití IEC	36
5.7.4	Detekce.....	37
5.7.5	Použití IEC ve spojení s ICP-MS.....	37
6	ZÁVĚR.....	38
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	39
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	43
9	SEZNAM POUŽITÝCH PŘÍLOH	44

1 ÚVOD

Rozvoj analytických separačních technik v minulých letech umožnil sledování celé řady prvků ve vzorcích biologického původu a ve vzorcích získaných z životního prostředí na ultrastopové úrovni. Kvantitativní analýzou lze získat údaj o celkovém množství určitého prvku ve zkoumaném vzorku, tyto informace ovšem nemusí být vždy dostačující.

Kovy mají v dnešní době velmi široké využití, mimo jiné jsou žádaným materiálem při výrobě konzerv pro potravinářské účely. Do ovzduší se z různých zdrojů uvolňuje celá řada těžkých kovů, které se následně dostávají do půdy a kontaminují zemědělské plodiny. V potravinách se kovy vyskytují ve stopovém množství a toto množství může být pro člověka esenciální nebo toxické. V posledních desetiletích bylo úsilí analytických chemiků koncentrováno především na stanovení celkové koncentrace kovů, a tomu, v jaké chemické formě se kov nachází, v jakém je oxidačním stavu, případně v jaké sloučenině je přítomen, bylo věnováno jen málo pozornosti. Přitom právě určitá forma, v jaké se kov nachází, má vliv na celkovou toxicitu, biodostupnost a esencialitu. Příkladem může být chrom, který je esenciální v oxidačním stupni III, ale v oxidačním stupni VI je těžkým karcinogenem, nebo arsen, který je v anorganické formě velice toxický, kdežto jako arsenobetain běžně se nacházející v mořských plodech je neškodný. Tato zjištění vedla k rozvoji speciální analýzy. V oboru analytické chemie potažmo v odborné literatuře se pojem speciace objevil na přelomu sedmdesátých a osmdesátých let. Termín speciace označuje postup, jehož cílem je zjistit a rozlišit jednotlivé chemické formy určitého prvku (specie) ve stanovovaném vzorku. V dnešní době je speciální analýza velice populárním tématem, kterým se zabývá celá řada studií a prací.

Tato práce podává informace o kovech, které se nejčastěji vyskytují v potravinách, popisuje možnosti kontaminace potravin těmito kovy a podává přehled o analytických metodách, které jsou vhodné ke stanovení různých forem kovů v potravinách.

2 KOVY V POTRAVINÁCH

2.1 Kontaminace potravin kovy

2.1.1 Arsen

Do životního prostředí se arsen dostává zejména v důsledku hutní činnosti a spalování uhlí (popílký z tepelných elektráren obsahují 40–110 mg·kg⁻¹). Ke vstupu arsenu do životního prostředí přispívá také menší míře vulkanická činnost a zvětrávání hornin. Přírodní vody obsahují jen stopy arsenu v anorganické formě a mořská voda obsahuje 0,1–0,2 µg·dm⁻³ ve formě arsenitanu, arseničnanu, methylarsonové kyseliny a dimethylarsinové kyseliny. Na rozdíl od olova, kadmia a rtuti je arsen v půdě dosti mobilní i v neutrálním nebo mírně alkalickém prostředí a za redukčních podmínek. To souvisí s lepší rozpustností sloučenin trojmocného arsenu ve srovnání se sloučeninami pětímocného arsenu. Díky mobilitě arsenu v půdě je dostupný pro rostliny při příjmu kořenovou soustavou.¹

2.1.2 Olovo

Do potravního řetězce se olovo dostává nejčastěji z obalových materiálů, v menší míře z nátěrových látek případně spalováním fosilních paliv. Největším zdrojem znečištění pro životní prostředí je doprava. Životní prostředí je nejčastěji znečištěno sloučeninami tetraalkylů olova, což jsou látky přidávající se do pohonných paliv.² Rostliny mohou přijímat olovo jednak z půdního roztoku kořenovým systémem, jednak z atmosféry depozicí zejména na povrchu listů. Zemědělská půda obsahuje průměrně 10 mg·kg⁻¹. V listech stromů kolem frekventovaných komunikací jsou zjišťovány hodnoty až 700 mg·kg⁻¹.³ Do těla živočichů vstupuje olovo především orální cestou v konzumované potravě. Z hlediska výživy lidí je důležitý obsah železa ve svalovině a vnitřnostech zvířat. Olovo se výrazně hromadí v ledvinách a játrech.

2.1.3 Rtuť

Rtuť se do životního prostředí dostává zejména díky vulkanické činnosti, spalováním uhlí a používáním rtuti v průmyslu a zemědělství, při výrobě barev a dentálních výplní (plomby). Celkové množství rtuti vstupující do atmosféry se odhaduje na 15 000 tun ročně. Koncentrace rtuti v nekontaminovaných půdách se pohybují v rozmezí 0,02–0,2 mg·kg⁻¹. Vzhledem k malé mobilitě rtuti v půdě přechází rtuť do rostlin jen málo.⁴

2.1.4 Kadmium

Hlavním zdrojem znečištění životního prostředí a tedy i potravního řetězce člověka jsou těžba rud železa a zinku, spalování fosilních paliv a výroba plastů. Kadmium se může dostat do půdy jako součást nekvalitních amonných a především fosforečných hnojiv, které k nám byly v minulosti ve značné míře dováženy z Afriky. Ke kumulaci kadmia také dochází

¹ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 106-107

² CHANG, L.F., et al. Speciation analysis of mercury and lead in fish samples using liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. 2007. s. 143-148

³ HÁJKOVÁ, J. Těžké kovy v životním prostředí a jejich vliv na lidský organismus. SZPI. 2002.

⁴ HÁJKOVÁ, J. Těžké kovy v životním prostředí a jejich vliv na lidský organismus. SZPI. 2002.

v čistírenských kalech a hnojení těmito kaly může nezanedbatelným způsobem přispívat ke kontaminaci potravního řetězce.⁵

2.1.5 Selen

Selen patří mezi esenciální prvky. Jako součást glutathionperoxidasy napomáhá účinkům vitamínu E. Glutathionperoxidasa zajišťuje ochranu proti poškození biologických struktur oxidací. V přírodě je selen minoritní složkou sulfidů mědi, stříbra, olova a rtuti a je zde zastoupen velmi nerovnoměrně. Nejvyšší koncentrace selenu se nacházejí ve vyvřelých horninách. Je-li určitá půda zemědělsky využívána pro pěstování plodin nebo pastvu, pak jsou koncentrace selenu v plodinách a těle zvířat charakteristické pro příslušnou oblast.⁶ Ve vodách může být koncentrace selenu $2 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ – $1900 \text{ } \mu\text{l}^{-1}$ v závislosti na systému.⁷

2.1.6 Cín

Cín se řadí mezi neesenciální prvky. V přírodě se vyskytuje zejména jako minerál kassiterit (oxid cíničitý) a jako příměs v některých sulfidech. Způsob kontaminace potravin cínem je zejména z pocínovaných plechů používaných při výrobě plechovek pro potravinářské účely. Cín se z plechovky dostává do potravin díky korozi cínového povrchu v místech, kde je narušena ochranná vrstva laku. V posledních letech se proto přestávají používat pocínované plechovky pro ovocné šťávy, kompoty a jiné kyselé potraviny. Organokovové sloučeniny cínu, konkrétně dibutylcín v koncentraci až $160 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$, byly prokázány ve vínech transportovaných v nádobách z PVC.⁸

2.1.7 Chrom

Kontaminace potravin chromem hrozí zejména u těch potravin, které při své výrobě a skladování přicházejí do styku s kovovými materiály (např. s nerezavějící ocelí). V těchto případech může být původně velmi nízký obsah na úrovni několika $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ podstatně zvýšen.⁹

2.2 Nejčastěji zastoupené kovy v potravinách

2.2.1 Arsen

Arsen se ve vyšším množství akumuluje v mořských rybách, hlavně v měkkýších a korýších, kde je transformován zejména na arsenobetain, arsenocholin a další téměř netoxické organické sloučeniny. Ve vyšším množství se může arsen a jeho sloučeniny nacházet v ovsu, rýži a některých vínech. Některé plodiny, jako jsou tabák a bavlna, mají vůči arsenu vysokou toleranci a koncentrují ho více než jiné rostliny.¹⁰ Sloučeniny arsenu jsou zastoupeny v mořských produktech, vejcích a sýrech. Obsah arsenu v mořských rybách je menší než $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a v ostatních potravinách se pohybuje pod $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Při kontrole spotřebního koše na Slovensku v roce 2005 bylo zjištěno nejvíce arsenu v rýži, mléku, mouce a bramborách. Nejvíce arsenu bylo stanoveno v rýži, kde byly průměrné nálezy řádově vyšší než u ostatních

⁵ HÁJKOVÁ, J. Těžké kovy v životním prostředí a jejich vliv na lidský organismus. SZPI. 2002.

⁶ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 95

⁷ *Handbook of hyphenated ICP-MS* s. 18

⁸ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 109

⁹ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 92-93

¹⁰ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 106-107

komodit. Tato skutečnost může být vysvětlena tím, že v oblastech, kde se pěstuje rýže, mohou být používány starší pesticidy na bázi sloučenin arsenu. A rýže jako plodina pěstovaná na zaplavených polích má podstatně vyšší tendenci ke kumulaci látek rozpustných ve vodě včetně arsenu.¹¹ Tolerovatelná denní dávka arsenu pro dospělého člověka je 140 µg při tělesné hmotnosti 70 kg.¹² Obsah arsenu ve významných potravinách je zaznamenán v tabulce 4.

2.2.2 Olovo

Relativně vysokou koncentrací olova se vyznačují některé druhy zeleniny (špenát, hlávkový salát, mrkev), jedlé houby a semena olejnin. Z potravin živočišného původu mají největší obsah olova vnitřnosti. Vyšší obsah olova je ve vnitřnostech starších zvířat, což souvisí s věkem a výživou zvířat. Zvýšený obsah olova je také zjištěn u potravin balených v plechovkách. To je způsobeno kontaminací obsahu plechovky olovem obsaženým ve slitině cínu, kterou je zataven šev plechovky. Normální hladina olova v krvi u člověka je 50–120 mg·dm⁻³.¹³ Na Slovensku proběhl v letech 1993–2005 monitoring spotřebního koše a v rámci tohoto výzkumu byly zjištěny největší koncentrace olova v masných výrobcích, uzeném mase, měkkých sýrech a vínech. Dále bylo zjištěno, že největším dílem se na expozici olova podílí brambory, pitná voda, pivo, ovocné šťávy a mouka (58 % z celkového příjmu).¹⁴ Přijatelná denní dávka olova činí 500 µg při tělesné hmotnosti 70 kg. V tabulce 4 je uveden obsah olova ve významných potravinových surovinách a potravinách.

2.2.3 Rtuť

Vysoký obsah rtuti byl zjištěn v jedlých houbách a v mořských plodech, zejména v některých měkkýších a korýších. Obsah rtuti v rostlinách se pohybuje v desetinách až desítkách µg·kg⁻¹. Množství rtuti v těle zvířat závisí na jejich potravě. Zvýšená koncentrace rtuti byla stanovena např. v játrech a v ledvinách vodních ptáků. Přijatelná denní dávka celkové rtuti pro dospělého člověka je 50 µg při tělesné hmotnosti 70 kg. Vzhledem k malé mobilitě rtuti v půdě přechází rtuť do rostlin jen málo.¹⁵ Obsah rtuti v potravinách je zaznamenán v tabulce 4.

2.2.4 Kadmium

Kadmium z vody ve svém těle silně akumuluje četné vodní organismy (řasy, korýši, měkkýši). Mezi rostliny, které získávají velké množství kadmia z půdy patří špenát, hlávkový salát a některé olejnin. Obiloviny přijímají jen malá množství kadmia. Z potravin živočišného původu mají nejvyšší obsah kadmia vnitřnosti a to konkrétně ledviny, v kterých může být obsah kadmia až o 2–3 řády vyšší než obsah povolený. Maso, vejce, mléko, mléčné výrobky obsahují kadmium jen ve stopovém množství.¹⁶ Tabulka 4 ukazuje, kolik kadmia se nachází ve vybraných potravinových surovinách a potravinách.

¹¹ ŠALGOVIČOVÁ, D., ZMETÁKOVÁ, Z. Arzén, kadmium, ortuť v potravinách v obchodnej sieti v Slovenskej republike. *Bezpečnosť a kontrola potravín*, IV. 2007

¹² EGYŮDOVÁ, I., ŠTURDÍK, E. Ťažké kovy a pesticídy v potravinách. *Nova Biotechnologica*. 2004. s. 163

¹³ EGYŮDOVÁ, I., ŠTURDÍK, E. Ťažké kovy a pesticídy v potravinách. *Nova Biotechnologica*. 2004. s. 163

¹⁴ ŠALGOVIČOVÁ, D., ZMETÁKOVÁ, Z. Arzén, kadmium, ortuť v potravinách v obchodnej sieti v Slovenskej republike. *Bezpečnosť a kontrola potravín*, IV. 2007

¹⁵ HÁJKOVÁ, J. Ťažké kovy v životním prostředí a jejich vliv na lidský organismus. *SZPI*. 2002.

¹⁶ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 102

2.2.5 Selen

Vysoký obsah selenu mají mořské ryby měkkýši a korýši (ústřice, krevety), sladkovodní ryby a vnitřnosti (ledviny) jatečných zvířat. Relativně vysoký obsah selenu mají také vejce, přičemž většina selenu je obsažena ve žloutku. Mléko, mléčné výrobky a maso obsahují selenu méně a tento obsah je velmi závislý na výživě zvířete. Některá krmiva pro zvířata se o selen záměrně fortifikují. Obsah selenu v potravinách rostlinného původu závisí na obsahu selenu v půdě nebo použitých hnojivech. Vegetace z lokalit s vysokým obsahem selenu v půdě může obsahovat až desítky $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tohoto prvku v sušině. Takováto koncentrace již může vyvolat otravu zvířat spásajících tuto vegetaci. V České republice je vzhledem ke stopovým koncentracím v půdě obsah selenu v potravinách velmi nízký. Údaje z let 1994–1995 naznačují určité zvýšení hladiny selenu v potravinách, takže se příjem blíží doporučeným hodnotám. Na této skutečnosti se pravděpodobně podílí dovoz zahraničních potravin s vysokým obsahem selenu.¹⁷ Tabulka 5 zaznamenává obsah selenu v potravinách v různých zemích.

2.2.6 Cín

Přirozený obsah cínu v potravinách je velmi nízký. Ryby obsahují $4\text{--}8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ve většině potravin je však koncentrace cínu menší než $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (např. mléko 0,005; mouka 0,01; špenát 0,02). Potraviny konzervované v pocínovaných plechovkách obsahují mnohonásobně vyšší koncentrace cínu (např. ovocné šťávy $30\text{--}260\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Denní dietární dávka cínu se odhaduje na 3 mg. Tolerovaná denní dávka cínu pro dospělého člověka o hmotnosti 70 kg je 140 mg.¹⁸

2.2.7 Chrom

Za bohatý zdroj využitelného chromu se považují pivovarské kvasnice. Za denní dietární dávku chromu se uvádí množství $50\text{--}200\text{ }\mu\text{g}$.¹⁹ Obsah chromu ve vybraných potravinách je uveden v tabulce 3.

3 SPECIACE KOVŮ

3.1 Speciační analýza

Rozvoj analytických technik v současné době umožňuje sledování celé řady prvků v různých vzorcích na ultrastopové úrovni. Údaje o celkovém obsahu určitého prvku ve zkoumaném materiálu, tj. informace získané kvantitativní analýzou, nemusí být vždy dostatečné pro posouzení možných účinků této hladiny prvku v daném prostředí. Sloučeniny těžkých kovů a metaloidů mají rozdílné vlivy a různou míru toxických účinků na živé organismy. Proto bylo nutno rozlišit různé formy vazby prvků ve vzorcích biologických materiálů a také ve vzorcích získaných z životního prostředí. Speciace označuje postup, který má za cíl rozlišení, případně stanovení jednotlivých forem prvku ve stanovovaném vzorku. Pod pojmem speciační analýza se skrývá stanovení koncentrací jednotlivých fyzikálně-chemických forem prvku, v nichž se prvek ve vzorku vyskytuje, tedy fyzikálně-chemický stav

¹⁷ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 96-97

¹⁸ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 109

¹⁹ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 93

prvku. Rozlišované formy prvku mohou být různá chemická individua (např. ionty v různých oxidačních stupních, komplexy, organokovové sloučeniny, atd.). Rozdílné formy mohou být také definovány jako chemická individua vázaná na jednotlivé fáze vzorku, subsystémy, skupiny sloučenin (např. bílkoviny, polysacharidy a pod.) nebo na biologické struktury, ale v tomto případě se jedná spíše o frakcionaci. V některých případech se jednotlivé formy odlišují a definují na základě rozdílných fyzikálně-chemických vlastností jako je rozpustnost a extrahovatelnost různými rozpouštědly nebo afinita k chemicky modifikovaným fázím nebo různá reaktivita těchto forem se selektivními činidly. Po provedení speciální analýzy je možné určit, v jaké formě (formách) je prvek ve vzorku přítomen²⁰.

3.2 Formy kovů v biologických materiálech a jejich toxické účinky

Vazebné formy stopových prvků v biologických materiálech jsou velmi různorodé. Z toho důvodu je speciace stopových prvků v těchto materiálech velice obtížná. Další obtíže při stanovení vazebných forem mohou vzniknout díky malé stabilitě těchto forem i samostatných bioligandů těchto prvků a také skutečností, že je nutné detekovat ultrastopová množství příslušného prvku v připravené frakci. Stopové prvky v biologických matricích interagují s přítomnými biomolekulami a ostatními složkami biologického materiálu a s nimi mohou tvořit následující formy:

- Elementární formu
- Volné nebo hydratované ionty kovů a nekovů v různých oxidačních stupních
- Komplexní sloučeniny kovů s anorganickými ligandy nebo s organickými ligandy o různé molekulové hmotnosti jako jsou např. aminokyseliny, peptidy a bílkoviny, cukry a polysacharidy, polární lipidy, hydroxykarboxylové kyseliny, kyselina fytová (tj. 1,2,3,4,5,6-cyklohexanhexaol-hexakis(dihydrogenfosfát)), rostlinné fenolové látky, třísloviny a flavonoidy, porfiry aj.
- Málo rozpustné sloučeniny (sulfidy, sírany, fosforečnany, šťavelany, hydroxidy)
- Organokovové sloučeniny
- Kovalentní sloučeniny nekovových a polokovových prvků (např. selenová analoga sirných aminokyselin, arsenová analoga kvarterních amoniových sloučenin apod.)
- Kovové ionty nebo komplexy vázané na povrchu nerozpustných biopolymerů

U většiny biologických materiálů je při speciální analýze třeba počítat s tím, že stopové prvky i majoritní složky jsou ve vzorku distribuovány nerovnoměrně a navíc jsou obsaženy v různých nadmolekulárních strukturách, buněčných stěnách či buněčných kompartmentech. Z toho důvodu se k separaci jednotlivých podílů vzorku používá zejména diferenciální centrifugace. Způsob izolace a frakcionace analytů musí být vybrán s ohledem na možné změny distribuce stopových prvků mezi jednotlivé fáze nebo chemicky definované frakce účinkem chemických a fyzikálních činitelů při izolaci, frakcionaci. Je tedy nutné uvážit důsledky možné denaturace biopolymerů, parciální hydrolýzy určitých složek nebo chemických změn způsobených vlastními enzymy vzorku, které po rozrušení buněčných

²⁰ KOPLÍK, R., et al. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy* 91. 1997. s. 38-44

kompartmentů přicházejí do styku s reaktivními substráty. Rozdílný speciální postup je třeba volit při analýze rostlinných materiálů, jiný u živočišných tkání nebo biomasy.²¹

3.2.1 Arsen

V životním prostředí se arsen vyskytuje nejčastěji v oxidačních stupních –III, 0, III a V. Za mírných redukčních podmínek se arsen vyskytuje v trojmocné formě jako arsenitan. Z anorganických sloučenin arsenu vznikají jako produkty metabolické činnosti vodních organismů metylované formy, jako jsou dimethylarsinová kyselina, methylarsonová kyselina a arsenová analoga kvarterních amoniových sloučenin arsenobetain a arsenocholin.²² Toxicita jednotlivých sloučenin arsenu klesá v pořadí $\text{AsH}_3 > \text{AsO}_3^{3-}$ resp. $\text{As}_2\text{O}_3 > \text{AsO}_4^{3-} > \text{methylarsonová kyselina} > \text{dimethylarsinová kyselina} > \text{arsenobetain} \approx \text{arsenocholin}$.²³ Dosud arsenu nebyla přiřazena žádná důležitá biochemická funkce. Bylo prokázáno, že arseničnanový anion je ve fosforylačních reakcích akceptorem namísto fosfátu a to způsobuje, že arseničnany vyvolávají v oxidativní fosforylaci hluboký rozvrat – nevytvářejí makroergické vazby jako fosfáty. Arsen začíná působit toxicky v dávkách 30–50 mg. Mezi příznaky chronické otravy arsenem patří vředy na kůži, typické zhrubnutí kůže na dlaních a chodidlech, ztráta vlasů, nehtů, zažívací potíže a bolesti hlavy. V malých dávkách má arsen příznivé podmínky a používá se na zlepšení tělesné hmotnosti a celkového stavu. Tolerance na arsen může být zapříčiněna rychlejší přeměnou As(III) na As(V) v těle. Sloučeniny As(III) jsou 5–20krát toxičtější než sloučeniny As(V)²⁴

3.2.2 Olovo

Olovo se řadí mezi toxické prvky a je nejrozšířenějším prvkem z těžkých kovů. Vyskytuje se v oxidačních stavech 0, II a IV. Ve většině anorganických sloučenin se olovo nachází ve formě Pb(II). Anorganické soli olova jsou většinou špatně rozpustné, kromě octanu, dusičnanu, chlorečnanu a chloridu. Z organických sloučenin olova jsou nejvýznamnější tetraethylolovo a triethylolovo. Olovo je také schopné tvořit organické methylderiváty. S věkem celkový obsah olova v organismu stoupá. Biochemické účinky olova se projevují už při koncentracích $0,1\text{--}0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Toxicita olova spočívá v jeho schopnosti vytvářet silnou vazbu s triolovými –SH skupinami, které jsou součástí některých enzymů, v inhibici tvorby hemoglobinu, v negativním působení na červené krvinky a nervový systém. Nejvíce se akumuluje v kostech, působí neurotoxicky a považuje se za potenciální karcinogen.²⁵

3.2.3 Rtuť

Mezi nejčastěji stanovované formy rtuti patří anorganická rtuť, methylртуť a ethylртуť. V potravinách se vyskytuje rtuť zejména v anorganické formě. Předpokládaný denní příjem z ryb a mořských produktů je $3 \mu\text{g}$, z toho je 20 % v anorganické formě a 80 % ve formě

²¹ KOPLÍK, R., et al. Specie stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy* 91. 1997. s. 38–44

²² KOPLÍK, R., et al. Specie stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy* 91. 1997. s. 38–44

²³ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 107

²⁴ PROUSEK, J. *Rizikové vlastnosti látek*. 2001. s. 57–58

²⁵ PROUSEK, J. *Rizikové vlastnosti látek*. 2001. s. 53–54

methylyrtuti.²⁶ Speciace rtuti v rybách, ale i v jiných biologických materiálech, spočívá zejména ve stanovení methylyrtuti plynovou chromatografií. Při izolaci methylyrtuti ze vzorku se nejprve provádí extrakce z prostředí zředěné kyseliny chlorovodíkové do toluenu a následná reextrakce neutrálním vodným roztokem cysteinu. Po opětovném okyselení se analyt znovu extrahuje do benzenu a následuje stanovení např. plynovou chromatografií s využitím hmotnostního spektrometru.²⁷ Toxicita jednotlivých forem rtuti klesá v řadě alkylrtuťnaté sloučeniny (hlavně CH_3Hg^+) > páry elementární rtuti > rtuťnaté soli > alkoxyrtuťnaté sloučeniny > rtuťné soli. Případ hromadné otravy rtutí byl zaznamenán v Iráku v důsledku použití obilí ošetřeného organortuťným fungicidem pro potravinářské účely. Při intoxikaci rtutí a jejími sloučeninami jsou poškozeny ledviny a mozek. Účinky jednotlivých forem rtuti jsou rozdílné. Při otravě methylyrtutí dochází k poruchám smyslových funkcí, řeči a polykání. Methylyrtuť má také teratogenní účinky. Otrava anorganickými sloučeninami může vést ke snížení produkce moči nebo až k selhání ledvin. Otravy rtutí a sloučeninami rtuti se léčí pomocí látek s komplexotvornými účinky (glutathion, dimerkaptosukcinát, dimerkaptopropanol).²⁸ Mezi nejběžnější metody pro stanovení speciací rtuti patří LC a HPLC. Výhodou při stanovení různých forem rtuti metodou HPLC je jednoduchá příprava vzorku a to, že HPLC dovoluje provádět separaci Hg za laboratorní teploty. Nejběžnějšími způsoby detekce spojené s HPLC jsou ICP-MS a ICP-AES. Tyto metody mají nízké detekční limity a vysokou selektivitu, nevýhodou je relativně vysoká pořizovací cena.²⁹

3.2.4 Cín

Vysoce toxické jsou především organokovové sloučeniny cínu. Toxické účinky cínu se projevují až při dlouhodobé konzumaci potravin s velmi vysokým obsahem cínu ($1400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).³⁰

3.2.5 Selen

Selen se vyskytuje ve čtyřech oxidačních stavech (-II, 0, +IV, +VI) a v množství anorganických a organických sloučenin. Mezi organické sloučeniny obsahující selen v oxidačním stavu -II patří selenové aminokyseliny a nestálé formy jako jsou dimethylselenid a dimethyldiselenid. Ty jsou vzhledem k ostatním formám Se méně toxické.³¹ Mezi selenové aminokyseliny patří selenocystein, což je geneticky kódovaná (tzv. 21.) aminokyselina přítomná v glutathionové peroxidase a selenoproteinu P. Další selenovou aminokyselinou je selenomethionin, který není geneticky odlišitelný od methioninu, proto je považován za

²⁶ EGYŮDOVÁ, I., ŠTURDÍK, E. Těžké kovy a pesticidy v potravinách. *Nova Biotechnologica*. 2004. s. 163

²⁷ KOPLÍK, R., et al. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy* 91. 1997. s. 38-44

²⁸ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 105

²⁹ DONG, L.M., et al. On-line coupling of flow injection displacement sorption preconcentration to high-performance liquid chromatography for speciation analysis of mercury. *Journal of chromatography A*. 2004. s.119-125

³⁰ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 109

³¹ Determination of Organic and Inorganic selenium Species Using HPLC-ICP-MS In *Handbook of hiphenated ICP-MS* s. 18-19

inaktivní.³² V rostlinách, které silně akumulují selen, je tento prvek přítomen hlavně ve formě Se-methylselenocystein, γ -glutamyl-Se-methylselenocystein, Se-methylselenomethionin, selenocystathionin. Selen ve formě selenových aminokyselin, které jsou součástí molekul proteinů, je zastoupen zejména v potravinách. Ve většině potravin rostlinného původu je hlavní formou selenu selenomethionin. V česneku je selen zastoupen jako selenocystein a organické selenidy. V potravinách živočišného původu je většina selenu vázána v selenocysteinu.³³ Ke speciální analýze selenu v lidském séru může být použita metoda SEC-ICP-MS.³⁴ Pro rutinní stanovení různých forem selenu ve vzorcích vod a potravin je vhodná metoda HPLC-ICP-MS s kolizně reakční celou.³⁵ Nevýhoda použití chromatografických metod tkví v tom, že selenové formy mohou reagovat se stacionární a mobilní fází. Tento problém nenastává při použití metod CZE-ICP-MS a CIEF-ICP-MS. Metodu CZE-ICP-MS lze použít ke stanovení šesti forem selenu (Se^{+IV} , Se^{+VI} , selenocystamin, selenocystein, selenomethionin a Se vázaný v glutathionu). Metodou CIEF-ICP-MS je vhodná zejména pro stanovení organických forem.³⁶ Chronická expozice člověka zvýšeným dávkám selenu se projevuje záněty dýchacích cest, edémem plic, krvácivostí, kožními změnami a depresi. Charakteristický je česnekový dech, jehož nositelem je dimethyldiselenid a kovová chuť v ústech.³⁷ Nedostatek Se vyvolává poruchy, jako je svalová dystrofie, cystická fibrosa, legionářská nemoc a roztroušená skleróza. Selen je toxický v nadměrných koncentracích, ale esenciální při fyziologických koncentracích.³⁸

3.2.6 Chrom

Prvek, který může mít formu komplexu ve čtyřech odlišných valenčních stavech (III, IV, V, VI). Dvě nejčastější, a tím pádem i nejčastěji detekované, formy chromu jsou chrom trojmocný a šestimocný. Trojmocný chrom je charakterizován jako esenciální a významným způsobem se podílí na metabolismu sacharidů a lipidů.³⁹ V metabolismu sacharidů trojmocný chrom pravděpodobně usnadňuje reakci mezi sulfhydrylovými skupinami buněčných membrán s disulfidovými skupinami inzulínu, a tak umožňuje inzulínem stimulovanou utilizaci glukosy. Vyšší dávky chromu působí jako prevence proti diabetu a částečně snižují hladinu cholesterolu a triacylglycerolů v krevní plazmě, současně se zvyšuje podíl lipoproteinů o vyšší hustotě. Další funkcí chromu je chránit DNA proti tepelné denaturaci. Oproti tomu sloučeniny obsahující šestimocný chrom (chromany, dichromany) jsou vysoce

³² PALACIOS, Ò., LOBINSKI, R. Investigation of the stability of selenoproteins during storage of human serum by size-exclusion LC-ICP-MS. *Talanta*. 2007. s. 1813-1816

³³ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 97

³⁴ PALACIOS, Ò., LOBINSKI, R. Investigation of the stability of selenoproteins during storage of human serum by size-exclusion LC-ICP-MS. *Talanta*. 2007. s. 1813-1816

³⁵ Determination of Organic and Inorganic selenium Species Using HPLC-ICP-MS. *Handbook of hyphenated ICP-MS* s. 18-19

³⁶ MICHALKE, B., SCHRAMMEL, P. Application of CZE-ICP-MS and CIEF-ISP-MS for selenium speciation. *Journal of chromatography A*. 1998. s. 71-80

³⁷ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 97

³⁸ MICHALKE, B., SCHRAMMEL, P. Application of CZE-ICP-MS and CIEF-ISP-MS for selenium speciation. *Journal of chromatography A*. 1998. s. 71-80

³⁹ Determination of Trivalent and Hexavalent Chromium in Pharmaceutical, Nutraceutical, and Biological Matrices Using IC-ICP-MS In *Handbook of hyphenated ICP-MS* s. 34

toxické a vykazují alergenní, mutagenní a karcinogenní účinky. Mohou způsobit poruchy růstu, poškození jater a ledvin a při kontaktu s kůží mohou vyvolat ekzémy.⁴⁰

3.2.7 Kadmium

Účinky kadmia na lidský organismus při jeho nadměrném příjmu mohou být chronické a akutní. Následkem akutní otravy kadmiem mohou být bronchitidy a plicní edémy. Chronická expozice kadmiem způsobuje onemocnění ledvin a jater, dekalifikaci kostí (zpomaluje se růst a dochází k bolestivému zkracování kostí), hypertenzi, rakovinu plic, prostaty a plicní fibrosy.⁴¹

⁴⁰ VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2002. s. 93

⁴¹ HIJOVÁ, E., KUČTA, M., NIŠTIAR, F. Kadmium – stále aktuálne riziko v životnom a pracovnom prostredí. *Životné podmienky a zdravie*. 2004. s. 27

4 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM ICP-MS

4.1 Úvod

Metoda ICP-MS je víceprvková analytická metoda, která má pro většinu prvků výrazně nižší meze detekce než běžné analytické metody a je vhodná zejména pro utrastopovou analýzu.

Metoda ICP-MS využívá vysokoteplotního ICP zdroje, který převádí atomy prvků obsažených ve vzorku na ionty, které jsou následně separovány a detekovány hmotnostním spektrometrem.

ICP je metoda, která se ve spojení se spektrometrií objevila asi před 30 lety a v dnešní době se nevyužívá jen jako zdroj charakteristického záření zpracovaného na analytický signál v optické emisní spektrometrii, ale také jako účinný a časově stabilní zdroj sloužící jako zdroj analytického zpracování pomocí hmotnostní spektrometrie. Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem dávají velice přesné a spolehlivé výsledky a to poměrně rychle a jednoduše⁴².

Základní vlastnosti ICP lze shrnout do následujících bodů:

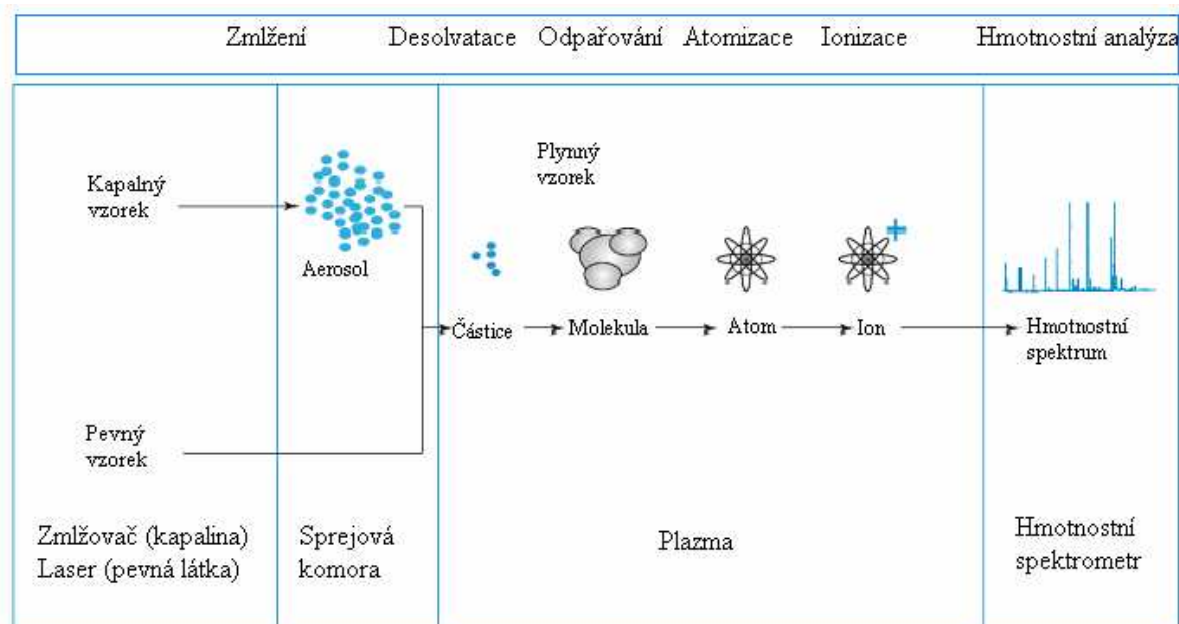
- Použitelnost pro 68 prvků periodické soustavy (prvky stanovené pomocí ICP-MS a jejich přibližné detekční limity jsou uvedeny v tabulce 5).
- Možnost multielementárního, simultánního a sekvenčního stanovení
- Vysoká selektivita
- Dobré meze detekce prvků za jednotných optimalizovaných podmínek zdroje
- Velký lineární rozsah kalibrace (4–6 řádů)
- Minimální nespektrální interference
- Možnost analýz pevných, kapalných i plyných vzorků
- Možnost analýzy stopového množství vzorku
- Přijatelná přesnost (1–3 %) a správnost
- Rychlost analýzy a její automatizovatelnost

4.2 Princip metody ICP-MS

V plazmatu je ionizován zředěný roztok nebo odpařený vzorek. Malým otvorem, tzv. sampling a skimmer kónusem, ionty vstupují do vakuového prostoru s elektromagnetickými čočkami, kvadrupólovým hmotnostním filtrem a elektronásobičovým detektorem. Elektromagnetické čočky usměrňují tok iontů tak, aby ionty obešly překážku, která brání pronikání rušivých fotonů z plazmatu na detektor. Následně jsou ionty v kvadrupólovém filtru rozkmitány tak, že při určitém napětí a frekvenci radiových vln na elektrodách kvadrupólu projdou pouze ionty o daném m/z . Ostatní druhy iontů jsou odčerpány nebo se vybíjí na stěnách kvadrupólu. Kvarupólem prošlé ionty vybudí v elektronásobiči signál, který je zesílen a elektronicky zpracován. Na detektor lze v krátkých intervalech vypouštět ionty o různém m/z , a to díky tomu, že lze rychle a přesně měnit napětí na elektrodách kvadrupólového filtru. To znamená, že mohou být měřeny různé nuklidy o relativní atomové hmotnosti např. od 3 do 256. Zařízení tedy rozpoznává odlišné relativní atomové hmotnosti iontů (nuklidy, izotopy), ale nerozpoznává chemické prvky podle elektronových obalů. Koncentrace izotopů a chemických prvků jsou stanovovány a počítány dle koncentrační kalibrace, která předchází

⁴² Spektroskopická společnost Jana Marci Marci. *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. 1997

měření. Cestu vzorku od zavedení do plazmatu po dosažení hmotnostního spektrometru ukazuje obr. č. 1.

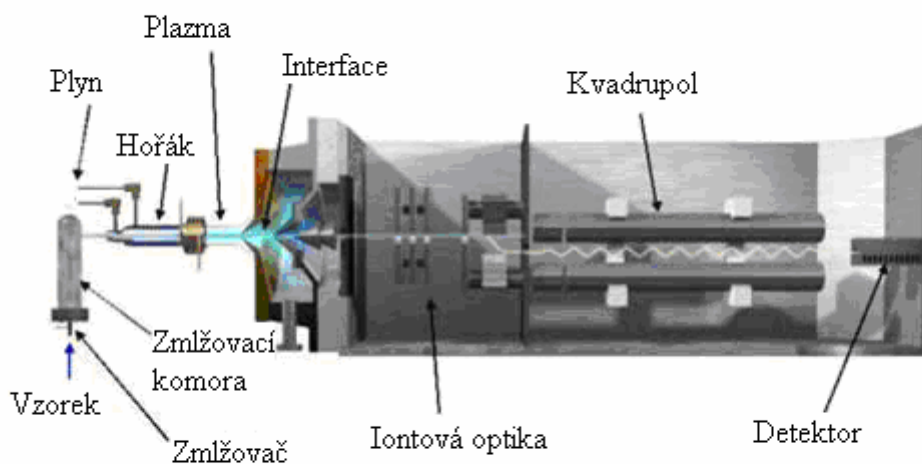


Obrázek č. 1 Cesta vzorku od zavedení po dosažení hmotnostního spektrometru⁴³

4.2.1 Hlavní části ICP-MS

Hlavní části ICP-MS jsou znázorněny na obrázku č. 2. ICP-MS je tvořeno peristaltickým čerpadlem, které nasává kapalný vzorek do zmlžovače, ve kterém je roztok převeden na aerosol. Následuje plazmová hlavice, ve které je generováno plazma, cívka a radiofrekvenční generátor. Přechod iontového zdroje k hmotnostnímu spektrometru se nazývá interface. Další částí je iontová optika, jejímž úkolem je rozostřit iontový svazek, tak aby obešel pohlcovač fotonů (destička v ose přístroje chrání detektor před dopadem fotonů) a poté ho opět zostří. Následně ionty putují kvadrupólovým analyzátozem, kterým projdou jen ty o určitém poměru hmotnosti a náboje iontu. Z kvadrupolového analyzátoru dopadají ionty na iontový detektor. Mezi další části ICP-MS patří počítač, řídicí systém, chladicí a ventilační zařízení a automatický dávkovač. Jednotlivé části ICP-MS jsou podrobně popsány níže.

⁴³ VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*



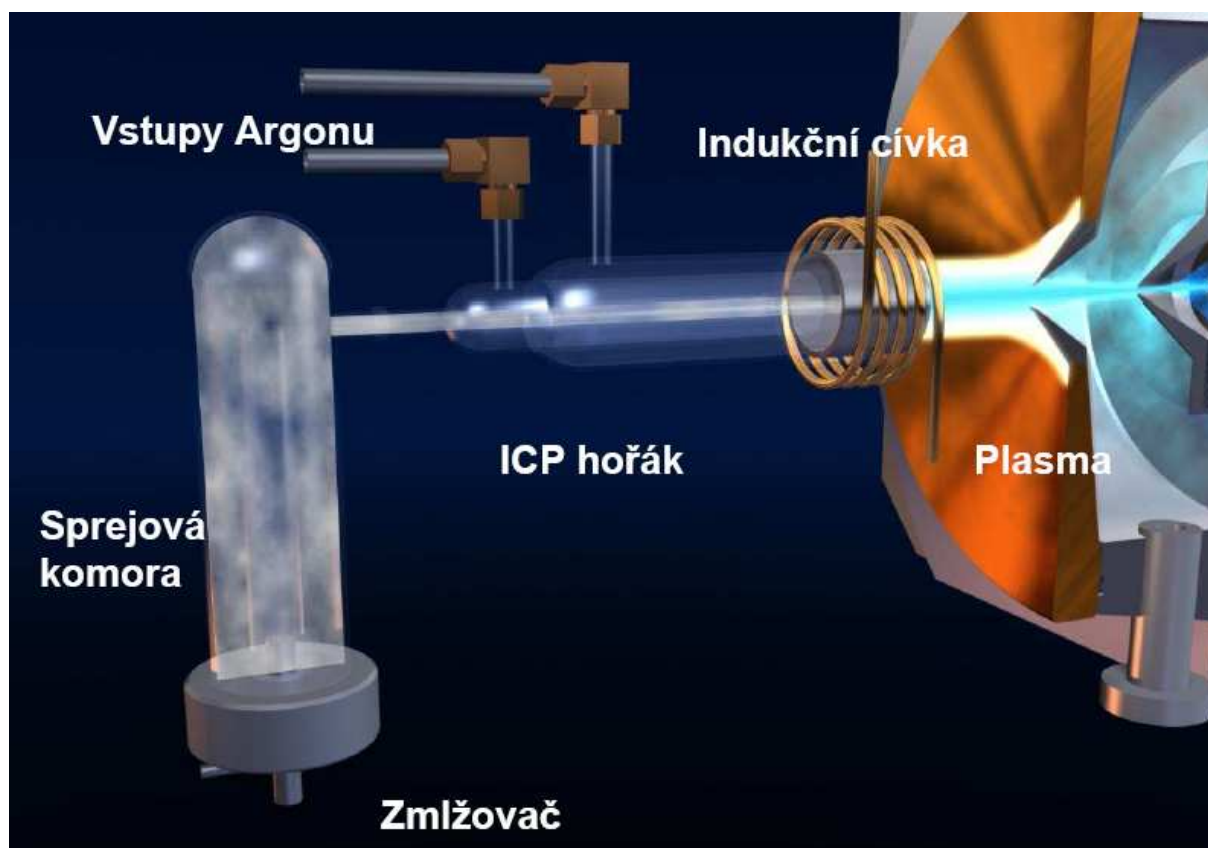
Obrázek č. 2 Schéma ICP-MS⁴⁴

4.2.2 Zavádění vzorku do plazmatu

Zavádění vzorku do plazmatu dosud patří mezi nejslabší články instrumentace. ICP, jako zdroj excitační a ionizační energie, může být používáno k analýze kapalných i plyných vzorků a s využitím různých technik také k přímé analýze vzorků pevných. Hlavním úkolem je převést kapalnou vzorek na aerosol a transportovat malé kapičky vzorku do plazmatu. Kapalnou vzorek je do zmlžovače nasáván peristaltickým čerpadlem. Tam je roztok převeden na aerosol (drobné kapičky), který je veden přes mlžnou komoru, ve které dochází k rozdělení kapek podle velikosti. Do plazmatu jsou vedeny jen kapičky určité velikosti.⁴⁵ Zavedení vzorku do plazmatu je znázorněno na obr. č. 3.

⁴⁴ Schéma ICP-MS. Dostupné z: <<http://www.carlstuart.com/Online-Shop/Chromatography/ICP-MS-Supplies/Description>>

⁴⁵ Spektroskopická společnost Jana Marci Marci. *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. 1997



Obrázek č. 3 Schematické znázornění transportu vzorku do plazmatu⁴⁶

4.2.3 Plazma

Při zahřívání látky v plynném skupenství dochází postupně k její atomizaci a ionizaci a díky tomu látka přejde na plazma. To bývá často považováno za čtvrté skupenství hmoty. Plazma lze definovat jako ionizovaný makroskopicky neutrální plyn, v němž volné elektrony a ionty vykazují kolektivní chování. Kolektivním chováním se rozumí ty pohyby částic, které závisí nejen na lokálních podmínkách, ale i na stavu plazmatu ve vzdálenějších oblastech.⁴⁷ Plazma obsahuje dostatečný počet elektricky nabitých částic, přičemž počet kladných a záporných iontů je stejný. Celá soustava je elektricky vodivá, ale celkově nevykazuje elektrický náboj, tzn. je kvazineutrální. Přechod plynu na plazma se uskutečňuje dodáním energie, která je vyšší než ionizační energie přítomných atomů. Této energie se zpravidla dosáhne zahřátím na vysoké teploty. Vlivem ionizace se v plynu začnou objevovat volně pohyblivé elektricky nabitě částice. Hlavní úlohu přitom hrají velmi pohyblivé elektrony, které při srážkách odevzdávají svou kinetickou energii těžším atomům a molekulám. To vede k dalšímu zahřívání soustavy a k prohlubování atomizace a ionizace.⁴⁸

4.2.4 Generování ICP

Výboj ICP je iniciován v plazmové hlavici přenosem vysokofrekvenčního plynu do proudu plynu a první ionizační impuls se dodá z Teslova transformátoru nebo indukčně zahřátým

⁴⁶ GODULA, M. *Současné inovace a trendy ve využití kolizních cel v ICP-MS*. 2008

⁴⁷ Spektroskopická společnost Jana Marci Marci. *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. 1997

⁴⁸ VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*

uhlíkem. Plazmové hlavice jsou vyrobeny ze žáruvzdorných trubic obvykle z křemenného skla a jsou uloženy v indukční cívce. Jako plazmový plyn se používá snadno ionizovatelný argon, méně časté je plazma argon-dusíkové. Největší nevýhodou argonu je jeho nízká tepelná vodivost omezující účinnost atomizačních procesů. Tuto skutečnost lze zlepšit přidavkem vodíku (plyn s nejvyšší tepelnou vodivostí).⁴⁹ Ideální je toroidní tvar plazmatu. Prostředkem prochází relativně chladný analytický kanál.⁵⁰

4.2.5 Produkce iontů v ICP

Vzorek jako aerosol je vnášen do plazmatu, kde je vysušen. Vysušené částičky vzorku jsou plazmatem rozloženy na atomy. Atomy jsou ionizovány, protože hmotnostní analyzátor je schopen operovat pouze s ionty. Z ústí plazmové hlavice vystupuje analyt jako směs iontů a atomů.

4.2.6 Interface (přechod iontového zdroje k hmotnostnímu spektrometru)

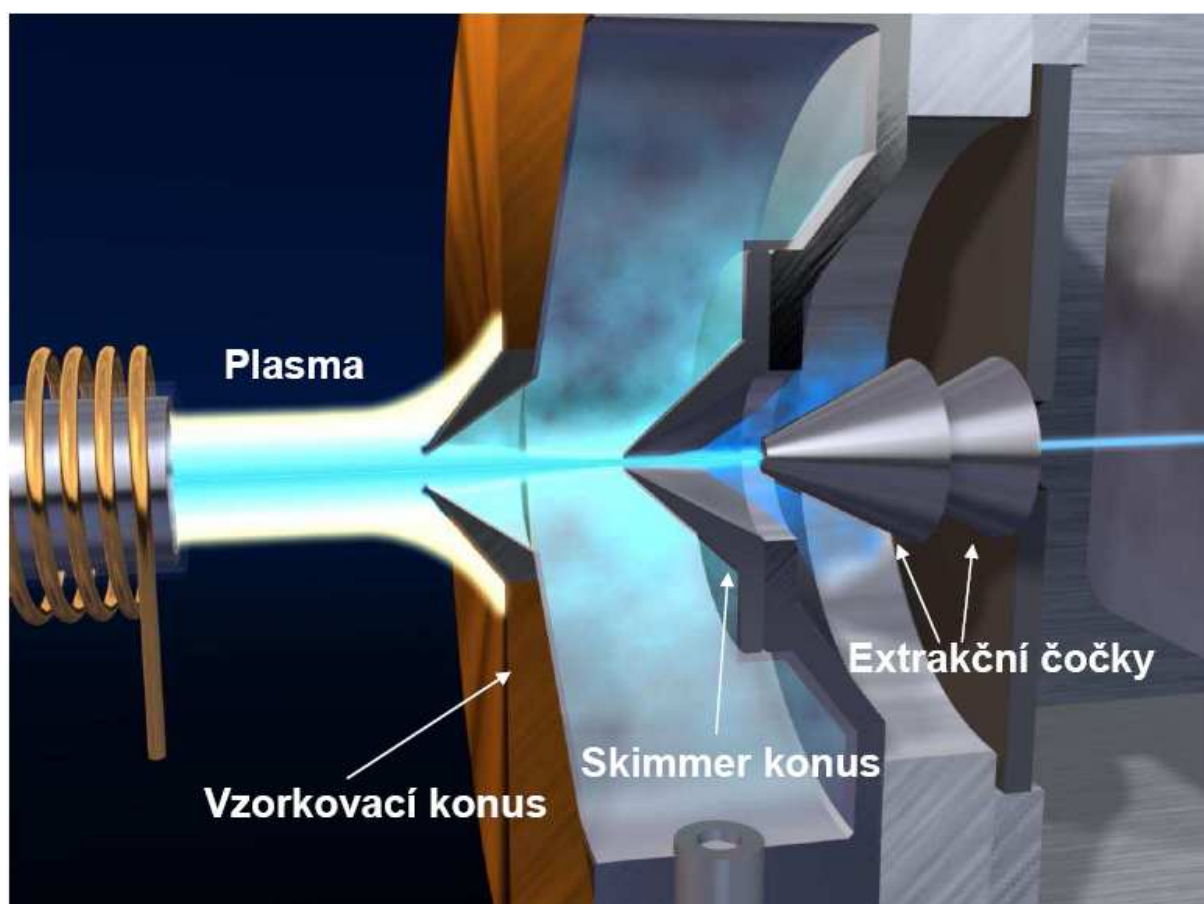
Ionty jsou z plazmatu transportovány do hmotnostního spektrometru skrz speciální rozhraní. Výboj ICP pracuje za atmosferického tlaku, ale hmotnostní analyzátor pracuje za nízkého tlaku. Přechod je tvořen dvěma kužely, v jejichž vrcholech jsou malé otvory (kónusy). První kónus se nazývá vzorkovací a je ponořen do plazmatu, kde odebírá z analytického kanálu proud iontů, má otvor o velikosti asi 1 mm. Druhý kónus se označuje jako „skimmer“ a má o něco menší otvor než první kónus – přibližně 0,75 mm. Mezi kónusy se tlak snižuje rotační vývěvou, kdežto prostor iontové optiky a hmotnostního analyzátoru je evakuován pomocí turbomolekulárních pump. Při průchodu přes rozhraní jsou ionty urychlovány tlakovým spádem až na rychlosti překračující rychlost zvuku. Kónusy jsou připevněny k vodou chlazené desce, a tím je zajištěna jejich bezpečná teplota.⁵¹ Schéma přechodu mezi ICP a MS je znázorněno na obrázku č. 4. Jako materiál pro výrobu kónusů se nejčastěji používá nikl nebo platina (pro práci s vyššími koncentracemi kyselin). Technika ICP-MS je vhodná pro vzorky, jejichž koncentrace solí nepřekračuje $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. U vzorků s vyšším obsahem solí dochází k ucpávání otvorů v kónusech.⁵²

⁴⁹ Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmate, Sborník z přednášek. 1994. s. 11-18

⁵⁰ VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*

⁵¹ www.perkinelmer.com. The 30-Minute Guide to ICP-MS

⁵² VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*



Obrázek č. 4 Rozhraní ICP-MS⁵³

4.2.7 Iontová optika

V ose paprsku je umístěna zářezka, jejímž úkolem je chránit detektor před dopadem fotonů. Pokud by fotony na detektor dopadly, došlo by ke zvýšení šumu a pozadí signálu. Iontové čočky iontový svazek rozostřují, aby obešel zářezku fotonů, a poté ho opět zaostří, aby mohl pokračovat mezi elektrody kvadrupólu.⁵⁴

4.2.8 Kvadrupólový analyzátor

Kvadrupólový analyzátor je tvořen čtyřmi elektrodoými tyčemi kruhového nebo hyperbolického průřezu o průměru 12–18 mm a délce asi 200 mm. Tyto tyče jsou umístěny symetricky a vždy dvě protilehlé jsou vodivě propojeny. Na jeden pár tyčí je vloženo kladné a na druhý záporné stejnosměrné napětí. Zároveň je na tyče přiváděno také střídavé napětí o větší hodnotě, než jsou stejnosměrné složky. Výsledné napětí příslušného páru tyčí v daném časovém okamžiku tedy vzniká sčítáním obou proudů. Po většinu periody mají tyče s kladným stejnosměrným napětím kladné napětí a tyče se záporným stejnosměrným napětím záporné napětí. V ose mezi tyčemi je nulové napětí a v tomto směru jsou přiváděny analyzované ionty.^{55 56}

⁵³ GODULA, M. *Současné inovace a trendy ve využití kolizních cel v ICP-MS*. 2008

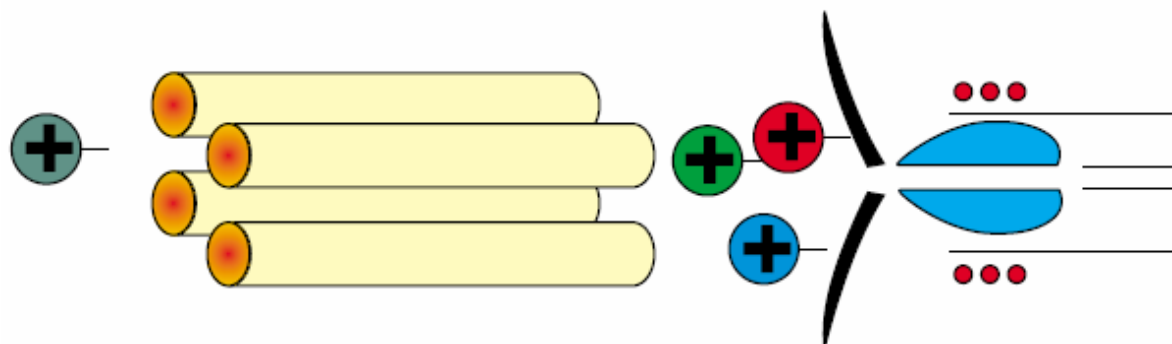
⁵⁴ Spektroskopická společnost Jana Marca Marci. *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. 1997

⁵⁵ VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*

⁵⁶ JARVIS, I., McLAREN, J.W., WILLIAMS, J.G. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. 1992. s. 37-38

4.2.9 Průchod iontů kvadrupólem

V kvadrupólovém filtru dojde k rozkmitání iontů, tak že při určitém napětí a frekvenci radiových vln na elektrodách kvadrupólu projdou pouze ionty o určitém poměru m/z (poměr hmotnosti iontů a jejich náboje). Ionty, které mají jiný poměr m/z jsou odvedeny pryč nebo se vybíjí na tyčích kvadrupólu. Ty ionty, které kvadrupólem projdou, vybudí v elektronásobiči signál, který je zesílen a elektronicky zpracován.⁵⁷ Průchod iontů kvadrupólem ukazuje obrázek č. 5.



Obrázek č. 5 Schematické znázornění kvadrupólu⁵⁸

4.2.10 Detektor iontů

Ionty, které prošly kvadrupólem jsou detekovány elektronásobičem. Elektronové násobiče mají schopnost zesílit elektronový proud 10^4 – 10^8 krát. Mívají tvar zužující se trubice, do jejíž širší části dopadají ionty. Širší konec má negativní potenciál, který je uzemněn a směrem k úzkému konci postupně klesá k nule. Ion vyrazí elektron, který dopadá na místo s méně negativním potenciálem a vyrazí další elektrony. Dalšími nárazy elektronů se signál zvětšuje a zesílený proud elektronů je veden do zesilovače, kde je vyhodnocován.

4.2.11 Interference

V ICP-MS je nutno počítat s celou řadou rušivých vlivů matrice, které se dělí na spektrální a nespektrální interference. Matrice vzorku (doprovodná složka obsažená ve vzorku) může být velmi jednoduchá, jako například vzorek pitné vody stabilizovaný kyselinou dusičnou, nebo velmi složitá – např. výluhy půd nebo odpadů, kde je matrice vzorku tvořena komplikovanou směsí iontů, komplexů a organických látek o značné koncentraci. Čím větší je variabilita matrice, tím obtížnější je odstranění případných rušivých vlivů. Důležitým faktorem je poměr mezi koncentrací analytu a koncentrací matrice. Interferencí matrice rozumíme efekt rozdílné velikosti signálu, kterou získáme pro stejnou koncentraci analytu v čistém standardu a za přítomnosti doprovodných složek.

▪ Spektrální interference

Může nastat několik možností:

- Hmotnostní překryv izotopů různých prvků se stejnou hmotností (eliminuje se volbou vhodného izotopu nebo matematickou korekcí)

⁵⁷ Spektroskopická společnost Jana Marci Marci. *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. 1997

⁵⁸ www.perkinelmer.com. The 30-Minute Guide to ICP-MS

- Hmotnostní překryv stanoveného prvku s molekulárními nebo polyatomickými ionty se stejnou efektivní hmotností (m/z). Ty se formují v plazmě z prekurzorů vznikajících z plazmových plynů, vody a kyselin použitých pro rozpouštění matrice vzorku.

▪ Nespektrální interference

Tyto interference způsobují zvýšení i snížení signálu a jsou způsobeny následujícími jevy:

- Ovlivnění transportu a zmlžování
- Efekty ovlivňující ionizaci v plazmě, které jsou nejčastěji způsobeny vyššími koncentracemi snadno ionizovatelných prvků nebo přítomností organické matrice
- Blokády na vstupních clonách interface vznikající usazováním solí (metoda se používá pro roztoky obsahující běžně od 0,2 % solí, max 1 %.)
- Matricí indukované změny v iontovém paprsku. Většinou se jedná o změny rozložení elementů v iontovém paprsku. Tyto efekty způsobují vysoké koncentrace Na, K, Cs, Mg, Ca (zvýšení signálu), B, Al, U (snížení signálu).

K eliminaci nespektrálních interferencí je nejčastěji používaná metoda vnitřních standardů. Musí platit podmínka, že mechanismus interference a míra ovlivnění musí být stejné pro analyzované vzorky a vnitřní standard.⁵⁹

4.2.12 Způsoby eliminace interferencí

Možnosti eliminace interferencí jsou následující:

- odstraněním matrice
- zředěním vzorku
- matematickou korekcí
- optimalizací přívodu vzorku - např. chlazená zamlžovací komora (0,2°C), nižší průtok vzorku než 0,4 ml·min⁻¹)
- eliminací sekundárních výbojů
- eliminací interferencí kolizemi v kónusech
- hmotnostním analyzátozem s vysokým rozlišením
- použitím kolizně-reakční cely – odstranění interferujících polyatomických iontů⁶⁰

⁵⁹ VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy*

⁶⁰ GODULA, M. *Současné inovace a trendy ve využití kolizních cel v ICP-MS*. 2008

5 SEPARAČNÍ TECHNIKY A JEJICH SPOJENÍ S ICP-MS

Při stanovení různých forem kovů je velice důležité spojení vybrané separační techniky, která má za úkol oddělit od sebe různé chemické formy prvků nebo frakce obsahující skupinu vybraných specií s prvkově selektivní detekční technikou. V následujících kapitolách je diskutováno použití ICP-MS jako prvkového detektoru a vybraných separačních technik GC, HPLC, IEC, CE, CZE, CEC, SEZ. Možnosti spojení různých separačních technik za účelem speciální analýzy jsou zapsány v tabulce 1.

Separační metody využívají různých fyzikálních, fyzikálně chemických vlastností složek vzorku k tomu, aby byl vzorek rozdělen alespoň na dva podíly odlišného složení. Úkolem separace je zvýšit látkový zlomek jedné nebo více složek původního vzorku vzhledem k ostatním přítomným složkám. Metody separace lze charakterizovat selektivitou, rozsahem použitelnosti a frakcionační kapacitou.

Selektivita označuje schopnost separační metody dělit látky na základě jedné nebo více vlastností. Pokud jsou látky děleny podle rozdílů ve tvaru molekuly jedná se o selektivitu strukturní.

Rozsah použitelnosti charakterizuje schopnost metody dělit určitý typ vzorku vzhledem k fyzikálněchemickým vlastnostem složek. Z tohoto hlediska se separační technika může označit, jako vhodná pro separaci atomů, molekul nebo makromolekul, popř. vhodná pro separaci látek těkavých nebo netěkavých.

Maximální počet složek, který může být rozdělen v jediné operaci udává frakcionační kapacita.⁶¹

5.1 Plynová chromatografie (GC)

5.1.1 Princip GC

Analytická metoda plynové chromatografie je založena na opakovaném ustavení rovnovážného poměru koncentrace analytu mezi stacionární a mobilní fází. Vzorek se dávkuje do proudu plynu a dále je unášen kolonou. Pohyb analytu v separačním systému je převážně určen migrací vyvolanou mobilní fází, nosným plynem. Vedle migrace může pohyb analytu způsobovat také difuze a to jak v mobilní, tak i ve stacionární fázi.⁶² Aby mohlo dojít k transportu vzorku, musí být ihned přeměněn na plyn. V koloně dochází k separaci složek na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky vycházející z kolony jsou indikovány detektorem. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek. Plynovou chromatografií lze separovat takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Plynová chromatografie může být použita k separaci plynů, většiny nedisociovatelných kapalin, pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Analyty nevyhovujících vlastností mohou být převedeny na deriváty, které už v analýze plynovou chromatografií použity být mohou.⁶³

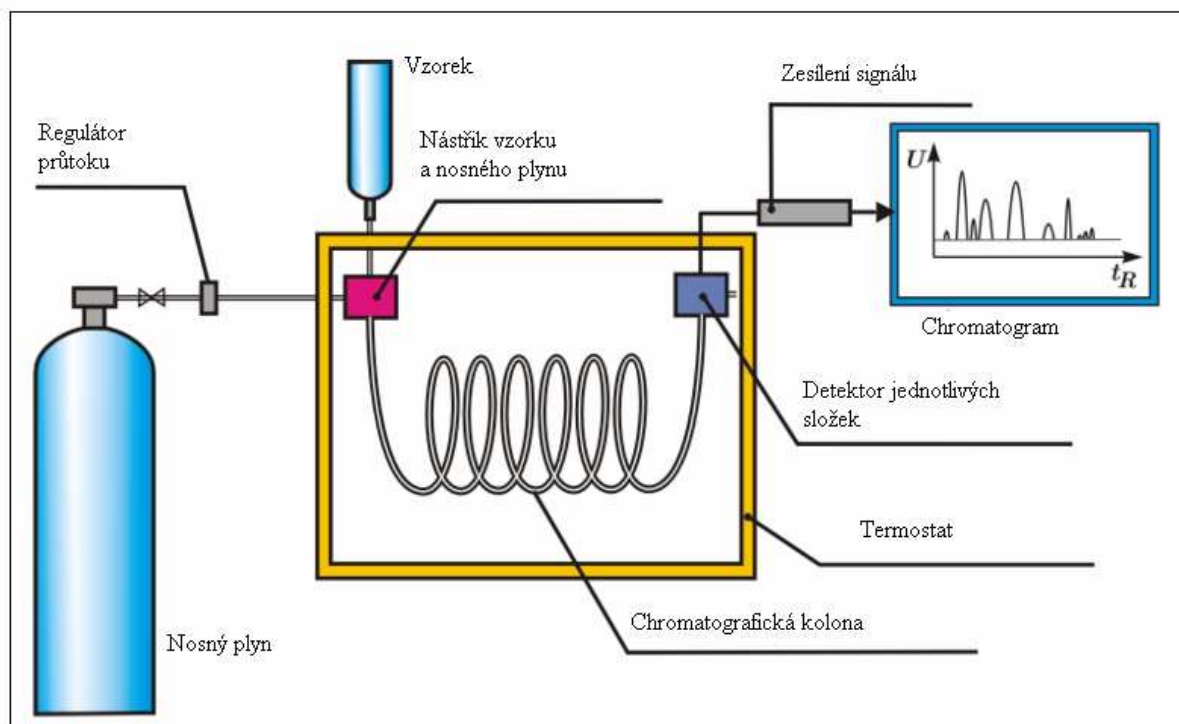
⁶¹ VOLKA, K. *Analytická chemie II*. 1995, s. 151

⁶² ŠEVČÍK, J. *GC a její aplikace v organické analýze*. Dostupné z: <http://www.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn_chrom.pdf>

⁶³ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003

5.1.2 Uspořádání GC

Na obrázku č. 6 je znázorněno schéma uspořádání plynové chromatografie.



Obrázek č. 6. Uspořádání plynové chromatografie⁶⁴

▪ Zdroj nosného plynu

Nosný plyn (mobilní fáze) je umístěn v tlakové nádobě. Jako nosné plyny se nejčastěji používají vodík, dusík, helium nebo argon. Při volbě plynu se musí uvažovat faktory jako viskozita, účinnost, reaktivita, čistota, typ používaného detektoru, cena a inertnost ke složkám vzorku. Nosný plyn nemá přímý vliv na separaci. Např. často využívaný vodík má zásadní nevýhodu – je hořlavý a explozivní, případně schopný hydrogenace některých látek, které pak detekujeme navíc. Při volbě nosného plynu hraje také roli druh kolony a detektoru.⁶⁵

▪ Čistící zařízení

Úkolem čistícího zařízení je zachycovat vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Odstraňuje z nosného plynu zbytky nežádoucích plynů a stopy reaktivního kyslíku, který trvale poškozuje stacionární fázi.

▪ Regulační systém

Jedná se o elektronické regulační zařízení, které slouží k ovládání průtoků a tlaku nosného plynu. Regulátor průtoku zajišťuje konstantní nebo programově se měnící průtok nosného plynu kolonou a detektorem bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony. Proměnná veličina tlak se nastaví automaticky podle viskozity plynu, vnitřního průměru kolony a délky kolony tak, aby průtok kolonou byl konstantní.⁶⁶

⁶⁴ Plynová chromatografie. Dostupné z: <<http://sk.wikipedia.org/wiki/S%C3%BAbor:SchemaGC.png>>

⁶⁵ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 11

⁶⁶ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 11

▪ **Dávkovací zařízení (injektor)**

Tato zařízení slouží k dávkování vzorku na začátek kolony, převedení vzorku do plynného stavu a vnesení do proudu nosného plynu. Dávkování roztoku se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky (0,1–10 µl) přes pryžové septum, které odděluje vnitřek injektoru od vnějšího prostředí. Pro plynné vzorky se používají plynotěsné injekční stříkačky nebo různé obtokové dávkovací kohouty.

Z hlediska nástřiku vzorku do kolony lze rozlišit tři metody dávkování; nástřik do kolony, nástřik pomocí děliče toku a nástřik bez děliče toku. Všechny tři metody jsou blíže popsány níže.

Nástřik do kolony (on column) se používá zejména u náplňových kolon a dávkuje se 1–10 µl vzorku. Tento nástřik je preferován i u kapilárních kolon větší světlosti (od průměru 0,25 mm) s použitím jemné nástřikovací jehly pro 0,2–2 µl vzorku. Horní část kolony je zahřívána na teplotu o 10–30 °C nižší než je teplota varu rozpouštědla. Rychle nastříknutý vzorek musí vytvořit kapalný film na stěně kolony. Asi po jedné minutě se teplota kolony prudce zvýší a díky tomu dochází k odpaření vzorku.

Nástřik pomocí děliče toku (split injection). Tenčí kapilární kolony mají malou kapacitu, z toho důvodu se zejména u koncentrovaných vzorků musí pomocí děliče toku jeho část s nosným plynem oddělit. Tudíž se do kolony dostává jen definovaný zlomek nastříkovaného množství, které bývá v intervalu 0,1–0,2 µl. Skleněná vložka, která je součástí dávkovače, zajišťuje vysokou teplotou rychlé odpaření vzorku a správné promíchání par vzorku s nosným plynem.

Nástřik bez děliče toku (splitless injection). Tato metoda je vhodná pro relativně velké objemy (0,5–5 µl), které je nutno použít pro stopovou analýzu nebo se může použít při analýze látek, které se výrazně liší v bodu varu. Používá se totéž zařízení jako s dělením toku, ale odvod děliče je uzavřen. Vzorek se dávkuje pomalu do odpařovací trubice a nechá se asi minutu odpařovat. Poté se provede oplach septa. Dlouhá doba vstupu vzorku do kolony by vedla k rozšíření zón. Tomu lze zabránit Grobovou metodou. Jedná se o metodu využívající rozpouštědlo s vyšší teplotou varu (např. oktanu), které kondenzuje a vytvoří kapalný film v hlavě kolony.⁶⁷

▪ **Koncentrátor na počátku kolony**

Metoda zachycování vzorku ze vzduchu nebo vodného roztoku na adsorbent, jako je pórovitý polymer nebo grafitizované saze. Zachycený vzorek je následně tepelně resorbován přímo do kolony.

▪ **Kolona**

V koloně je umístěna stacionární fáze a nastává zde separace složek. V plynové chromatografii se používají dva druhy kolon; náplňové a kapilární.

Náplňové kolony jsou trubice ze skla nebo nerezové oceli dlouhé 1 až 3 m o vnitřním průměru 2 až 3 mm. Uvnitř trubice se nachází částice stacionární fáze o průměru 50–350 µm. Příklady náplní adsorbentu pro adsorpční chromatografii jsou silikagel, grafitizované saze a alumina (oxid hlinitý). Jako molekulová síta se používají hlinitokřemičitany. U rozdělovací chromatografie bývají nosiče kapalně fáze na bázi křemelinu (oxid křemičitý). Musí být

⁶⁷ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 11

upraveny tak, aby se při separaci neuplatňovaly jejich adsorpční schopnosti, protože separace složek mezi nosným plynem a zakotvenou kapalnou stacionární fází musí probíhat pouze na principu rozdělování. Náplňové kolony mají horší rozlišení, proto se v současné době používají především tehdy, je-li požadován větší objem stacionární fáze.⁶⁸ Mikronáplňové kolony mají malý průměr a obsahují velmi malé částice náplně. Z toho důvodu je při stejné délce jako u běžné náplňové kolony dosahováno vyšší účinnosti separace.

Kapilární kolony jsou obvykle vyrobené z taveného křemene o vnitřním průměru kolon 0,1–0,6 mm, délce 15–60 m, kapacitě 50 ng–15 µg. Funkci nosiče zastávají vnitřní stěny kapiláry, které jsou pokryty kapalnou stacionární fází. Rozlišují se dva základní typy kapilárních kolon. WCOT (Wall Coated Open Tubular) a PLOT (Porous Layer Open Tubular). Kapilární kolony WCOT mají přímo na vnitřní stěně kolony nanesený tenký film stacionární fáze (tloušťka filmu je 0,1–1 µm). U kapilárních kolon PLOT je na vnitřní stěně kapiláry nanesena, popř. chemicky vytvořena z materiálu stěny, pórovitá vrstva o tloušťce kolem 10 µm a větší. Při použití většího průměru kolony je možno pojmout větší množství vzorku. A naproti tomu použití menších průměrů kolon zajišťuje větší účinnost, ale nižší kapacitu. Obecně platí, že roste-li vnitřní průměr a tloušťka stacionární fáze, účinnost separace se snižuje. Obal kapiláry tvoří polyimidová vrstva, která dává křehkému materiálu kolony pružnost a brání ho před zlomením.⁶⁹

▪ Detektor

Nosný plyn z kolony protéká detektorem a ten reaguje na přítomnost analytu a vysílá signál, jenž je zaznamenáván v závislosti na čase. Detektor sleduje takovou vlastnost plynu z kolony, která závisí na druhu a koncentraci složek (analytická vlastnost). Musí mít dostatečnou citlivost (nízký detekční limit) a jeho odezva by měla být lineární funkcí obsahu analytu. Citlivější detektor změní signál při určité změně obsahu složky více než detektor méně citlivý a je schopen detekovat nejmenší postřehnutelný obsah složky. Důležitým požadavkem je vysoká selektivita pro stanovované analyty. Nejpoužívanější jsou tepelně-vodivostní detektor, plamenový ionizační detektor a detektor elektronového záchytu.⁷⁰

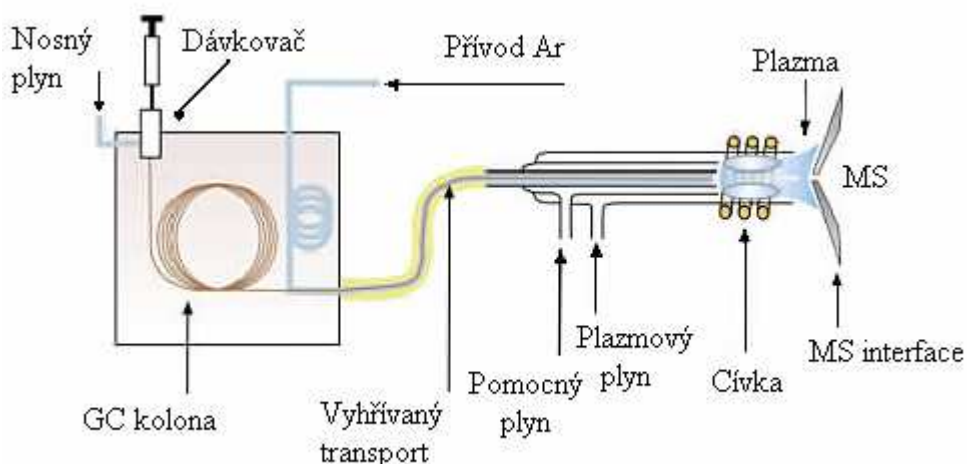
5.1.3 Spojení plynové chromatografie s metodou ICP-MS

Obrázek č. 7 znázorňuje spojení GC s ICP-MS. Z obrázku je patrné, že plynný vzorek přichází do plazmatu přímo, není třeba ho vést přes zmlžovací komoru.

⁶⁸ SOMMER, L. *Základy analytické chemie II*. 2000. s. 200

⁶⁹ VOLKA, K. *Analytická chemie II*. 1995. s. 174-175

⁷⁰ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 13



Obrázek č. 7 Schéma spojení plynové chromatografie s metodou ICP-MS⁷¹

5.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC)

5.2.1 Princip kapalinové chromatografie (LC)

Mobilní fázi v kapalinové chromatografii je kapalina. Na rozdíl od plynové chromatografie rozhodují o separaci složek vzorku nejen jejich interakce se stacionární fází, ale i použitá mobilní fáze. Během separace se analyt rozděluje mezi mobilní a stacionární fázi. Čas, jaký stráví v jedné nebo druhé fázi, závisí na afinitě analytu ke každé z nich. V kapalinové chromatografii mohou být využity různé mechanismy separace – adsorpce, rozdělení na základě různé rozpustnosti, iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii.

Na rozdíl od plynové chromatografie je možné pracovat za laboratorní teploty a není nutné převádět vzorek na plyn. Proto je kapalinová chromatografie vhodná i pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin.

Klasická kapalinová chromatografie se skládá ze skleněné trubice dlouhé asi 0,5 m o průměru asi 10–20 mm, dole zakončené fritou a kohoutem. Tato trubice je naplněna zrnitým sorbetem s velkým průměrem částic (např. oxidem hlinitým). Na horní vrstvu náplně se dává malé množství vzorku a pak se přidává mobilní kapalná fáze (eluent). Působením gravitační síly se mobilní fáze pohybuje kolonou, složky vzorku se od sebe separují a v různých časech opouštějí spodní část kolony.⁷² Frakce vystupující z kolony se analyzují jinou metodou, např. spektrofotometricky. Klasická kapalinová chromatografie nachází uplatnění při separaci jednoduchých směsí, např. oddělení rušících složek před spektrofotometrickým nebo elektrochemickým stanovením.⁷³

⁷¹Schéma GC-ICP-MS. Dostupné z: <<http://www.speciation.net/Public/Document/2007/08/11/2930.html>>

⁷² KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 25

⁷³ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 136

5.2.2 Princip HPLC

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) je metoda založená na principu klasické kapalinové kolonové chromatografie. Díky použití kolon naplněných stacionární fází o malé a dobře definovatelné velikosti částic je v HPLC dosahováno vysoké účinnosti. K účinné separaci je nutné použít dostatečně malá zrníčka sorbentu (3–10 μm), která kladou prostupující kapalině značný odpor. Aby byl zajištěn dostatečný průtok mobilní fáze, je třeba pracovat při vysokém tlaku (jednotky až desítky MPa). Metoda HPLC je vhodná k dělení netěkavých a polárních látek v komplexních matricích.⁷⁴

5.2.3 Uspořádání HPLC

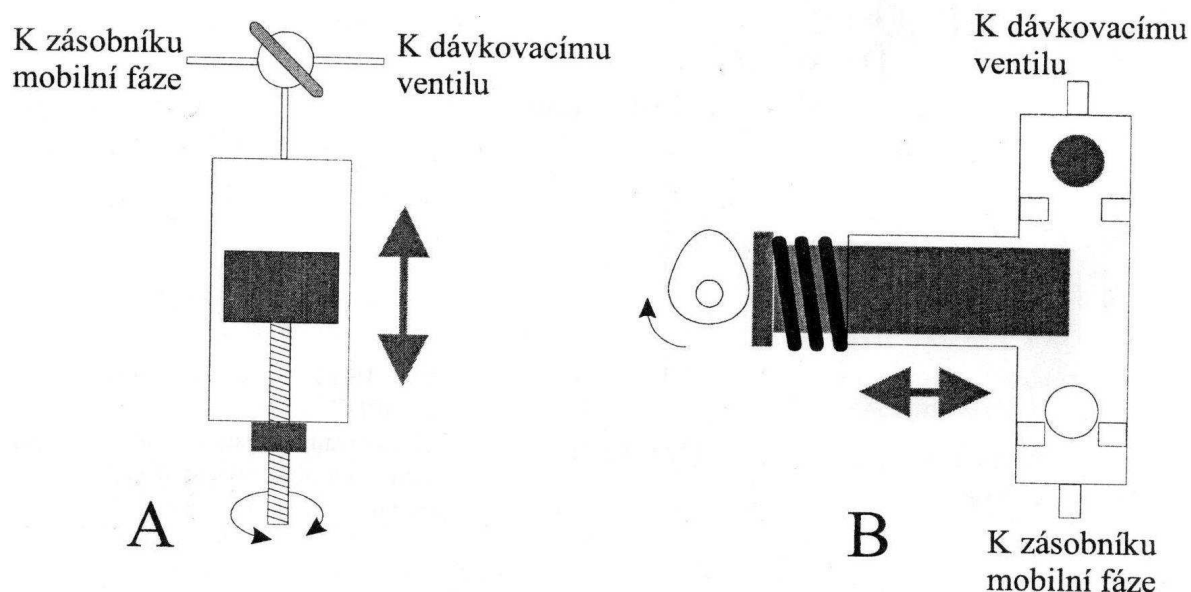
▪ Čerpadlo

Kapalina je do kolony čerpána pístovými nebo membránovými čerpadly. Průtok v čerpadle by měl být od mikrolitrů do desítek mililitrů s méně než 1% kolísáním průtoku při tlaku až 35 MPa. Nesmí docházet k porušování čerpadla mobilní fází, ani k uvolňování látek z mobilní fáze do materiálu čerpadla. Proto se čerpadla konstruují z materiálů jako je nerezová ocel, keramika a plast. Ventily sloužící k řízení toku eluentu bývají zhotoveny z pryže nebo safíru. U membránových čerpadel je prostor s pístem naplněný hydraulickou pracovní kapalinou a tento prostor je od pracovního prostoru pro mobilní fázi oddělen membránou.⁷⁵ Pístová čerpadla mohou být lineární nebo uspořádaná recipročně (viz. obrázek č. 8). Nevýhodou lineárního čerpadla je nemožnost změnit složení mobilní fáze, výhodou je bezpulzní provoz. Reciproční čerpadlo může způsobovat tlakové pulzy, které lze eliminovat zařazením druhého pracovního válce s pístem pracujícím v opačné periodě. Největší výhoda při použití recipročního typu čerpadla spočívá v možnosti měnit složení mobilní fáze před vstupem do pracovního válce.⁷⁶

⁷⁴ OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 165

⁷⁵ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 25

⁷⁶ OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 165-166



Obrázek č. 8 Základní typy čerpadel používané v HPLC: lineární dávkovač (A), jednolistové reciproční čerpadlo (B)⁷⁷

▪ Směšovací zařízení

V kapalinové chromatografii se mobilní fáze významně podílí na separačním procesu. Vždy je jednodušší změnit složení mobilní fáze než použít jinou stacionární fázi. Složení mobilní fáze může být ovlivněno změnou složení rozpouštědel, pH, iontově párovými činidly atd.⁷⁸ Složení mobilní fáze během separace může zůstat stálé (izokratická eluce) nebo se měnit (gradientová eluce). Naprogramované směšovací zařízení může s využitím zásobníků různých kapalin připravovat směs kapalin stálého složení nebo řídit změny ve složení výsledné mobilní fáze v průběhu separace.⁷⁹

▪ Dávkovací zařízení

Dávkovací zařízení slouží k vnesení vzorku do toku mobilní fáze protlačované kolonou pod velkým tlakem. Způsob dávkování injekční stříkačkou může přinášet nevýhody z hlediska těsnosti, udržení tlaku a zejména vnášení stop materiálu injekční stříkačky. Proto musí být injekční zařízení vyrobeno z inertních materiálů (nerezová ocel, titan, některé polymery). Ovládání injekčního zařízení může být ruční i automatické.⁸⁰ V dnešní době bývají injekční systémy nahrazeny obtokovými dávkovacími kohouty, které umožňují přesné odměření objemu vzorku vnitřní nebo vnější dávkovací smyčkou. Vnější dávkovací smyčka je tvořena nerezovou kovovou kapilárou o objemu nejčastěji 5 až 100 μl . Kohouty se konstruují jako čtyřcestné a šesticestné a často bývají ovládány elektricky, zejména, když jsou součástí automatických dávkovačů.⁸¹ Šesticestný ventil s dávkovací smyčkou je znázorněn na obrázku 9. Pokud je větší vzorek (řádově stovky μl) dávkován, za použití slabého eluentu, může dojít

⁷⁷ OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 166

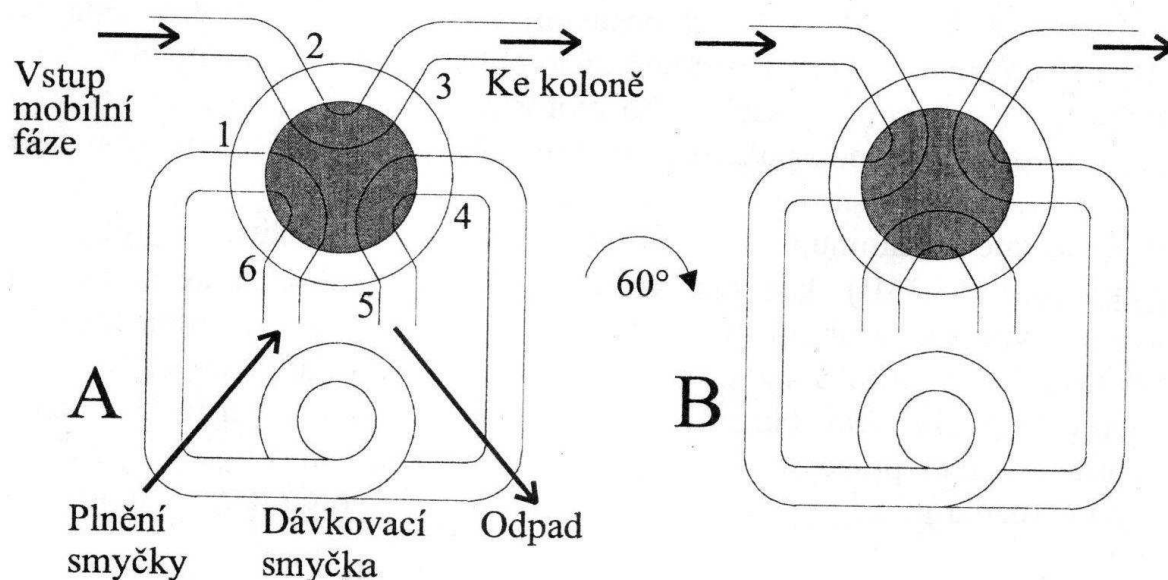
⁷⁸ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 140

⁷⁹ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 25

⁸⁰ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 25

⁸¹ SOMMER, L. *Základy analytické chemie II*. 2000. s. 216

k zachycení vzorku v hlavě kolony, zatímco eluent postupuje dále. Výměnou slabého eluentu za silnější může být dosaženo eluce analytů. Velice malé objemy vzorku (řádově zlomky μl) jsou aplikovány v kolonách malých vnitřních průměrů (micro-bore column) pomocí speciálních mikroinjektorů.⁸²



Obrázek č. 9 Šesticestný dávkovací ventil: fáze plnění dávkovací smyčky vzorkem (A), fáze dávkování a analýzy (B)⁸³

▪ Kolony

V HPLC se používají pouze náplňové kolony, které musí mít schopnost odolat vysokému tlaku mobilní fáze. Pro analytické účely se vyrábí kolony z nerezové oceli nebo tlustostěnného skla, o vnitřním průměru 2–5 mm a délce 30–300 mm⁸⁴. Obvyklý průtok eluentu je až 2 ml za minutu. Náplňový materiál pro analytické kolony má průměr 3–10 μm (kratší kolony jsou plněny jemnější náplní). Kolony o velmi malém vnitřním průměru (1–2 mm) a délce 25–50 cm mají vysokou účinnost, jsou levnější a spotřebují málo rozpouštědla (10–100 μl za minutu).

Hlavní kolona bývá chráněna předkolonou umístěnou mezi čerpadlem a dávkovacím zařízením nebo ochranou kolonou umístěnou mezi dávkovacím zařízením a analytickou kolonou. Způsobují jen malé rozšíření pásů a chrání kolonu před nečistotami a nerozpustnými materiály.

▪ Nastavení teploty

Většina separací HPLC probíhá při laboratorní teplotě a nevyžaduje termostatování. Některé separace se zlepší zvýšením teploty, což většina nových chromatografů umožňuje. V HPLC se však programová změna teploty nevyužívá.

⁸² KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 26

⁸³ OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 166

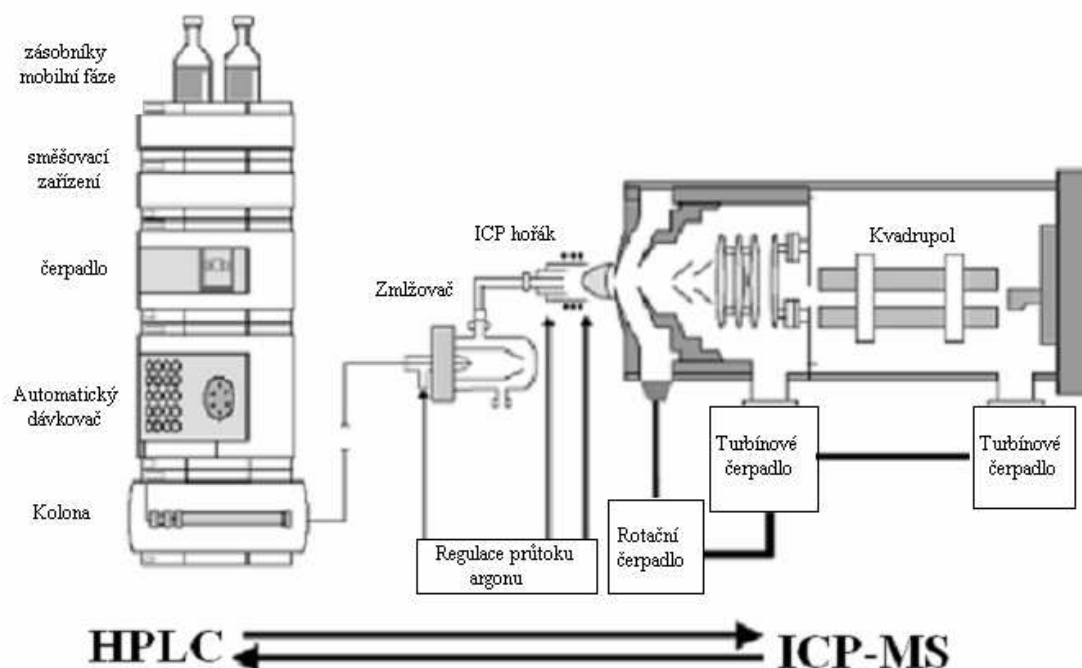
⁸⁴ OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 167

5.2.4 Použití LC a HPLC ve spojení s ICP-MS

Metoda LC-ICP-MS byla použita ke stanovení specií arsenu, konkrétně As(III), As(V), kyseliny dimethylarsinové a kyseliny methylarsonové v sazenicích fazolí.⁸⁵

Další využití našla metoda LC-ICP-MS při stanovení specií Hg a Pb v biologické tkáni. Jako vzorek byla použita svalovina a játra máčky skvrnité a svalovina mečouna. Methylrtuť byla prokázána jak ve svalovině tak v játrech máčky skvrnité. Anorganické olovo a methylrtuť byly hlavními formami těchto kovů ve všech vzorcích. V žádném ze stanovovaných vzorků nebyla zjištěna přítomnost ethylrtuti, trimethylolova a triethylolova.⁸⁶

Na obrázku č. 10 je znázorněno spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s metodou ICP-MS.



Obrázek č. 10 Schéma spojení HPLC s metodou ICP-MS⁸⁷

5.3 Kapilární elektroforéza (CE)

CE patří mezi elektromigrační separační metody, což jsou separační techniky založené na elektroforetické migraci iontů v elektrickém poli. Tyto metody vynikají zejména malou spotřebou vzorku a činidel potřebných pro separaci, velkou účinností separace, velkou rychlostí analýzy a krátkou dobou potřebnou na optimalizaci separačních podmínek. Mezi

⁸⁵ VAN DEN BROECK, K, VANDECASTEELE, C, GEUNS, J.M.C. Speciation by IC-ICP-MS of As in mung bean seedlings used as a bio indicator for the arsenic contamination. *Analytica Chimica Acta*. 1998. s. 101-111

⁸⁶ CHANG, L.F., JIANG, S.J., SAHAYAM, A.C. Speciation analysis of mercury and lead in fish samples using LC-ICP-MS. *Journal of Chromatography A*. 2007. s. 143-148

⁸⁷ Schéma HPLC-ICP-MS. Dostupné z: <<http://www.speciation.net/Public/Document/2007/06/21/2914.html>>

hlavní nevýhody elektromigračních separačních technik patří menší reprodukovatelnost a nižší citlivost.⁸⁸

5.3.1 Princip

Principem metody je kapilára naplněná elektrolytem, který vede proud. Konce kapiláry jsou ponořeny do zásobníků s elektrolytem společně s elektrodami z inertního materiálu (platina). Mezi elektrody se vkládá vysoké napětí (10–30 kV). Malý objem vzorku se dávkuje do konce kapiláry. Kapilára prochází přes detektor, který detekuje množství a složení vzorku. Závislost odezvy detektoru na čase se nazývá elektroforegram, který je podobný chromatografu. Poloha píku určuje kvalitu, plocha nebo výška píku kvantitu. Analýza vzorku v kapiláře probíhá poměrně rychle z několika důvodů. Jedním z nich je možnost použití vysokého napětí, protože teplo tvořené uvnitř kapiláry je účinně odváděno jejími stěnami. Dalším důvodem zrychlujícím analýzu je to, že kapilára prochází detektorem a je prováděna on-line detekce zón a počítačové vyhodnocení píků. A nakonec analýzu urychluje skutečnost, že elektroforéza je doplněna elektroosmózou. Elektroosmotický tok (EOF) má za následek pohyb roztoku kapilárou detektoru. Snižuje analytické časy a k detektoru unáší částice elektroforeticky migrující opačným směrem.⁸⁹

5.4 Kapilární zónová elektroforéza (CZE)

CZE neboli kapilární elektroforéza ve volném roztoku je separace založená na rozdílech v náboji analytu a provádí se jako volná elektroforéza bez nosiče v tenké kapiláře. Tato relativně nová metoda je schopná separovat nepatrná množství vzorku v relativně krátkém čase s vysokou přesností. CZE poskytuje možnost analyzovat velice malá množství vzorku (10^{-9} m³).⁹⁰ CZE je vhodná pro stanovení a separaci iontů lišících se svou molekulovou hmotností tvarem a nábojem. V křemenné kapiláře (o délce 20–100 cm a vnitřním průměru 25–100 μm) naplněné vhodným základním elektrolytem v elektrickém poli vysoké intenzity mezi platinovou katodou a anodou dochází k migraci elektricky nabitých sloučenin. Vnější povrch kapiláry je pokryt vrstvou polyamidu, což značně zvyšuje pružnost kapiláry a současně odstraňuje její křehkost. Tato kapilára je na obou stranách ponořena do nádobek se základním elektrolytem a opačně nabitých Pt elektrod.⁹¹ Pro zachování dostatečné separační účinnosti je nutno do kapiláry dávkovat definované velmi nízké objemy vzorku na úrovni jednotek nl. Proto jsou na dávkovací zařízení kladeny vysoké nároky. Nejčastěji se používá dávkování řízeným tlakem a elektrokinetické dávkování. Principem dávkování řízeným tlakem je to, že do hermeticky uzavřené nádoby se vzorkem, v níž je ponořeno ústí kapiláry je nad hladinu roztok přiveden přetlak vzduchu či vhodného inertního plynu. Velikost přetlaku a doba dávkování určuje objem nadávkovaného roztoku. V případě elektrokinetického dávkování je po ponoření ústí kapiláry do nádoby se vzorkem přivedeno vysoké napětí. Látkové množství nadávkované komponenty vzorku je kromě velikosti vloženého napětí a době analýzy úměrné i elektroforetické pohyblivosti této komponenty.⁹² Zjednodušené schéma CZE je znázorněno na obrázku č. 11.

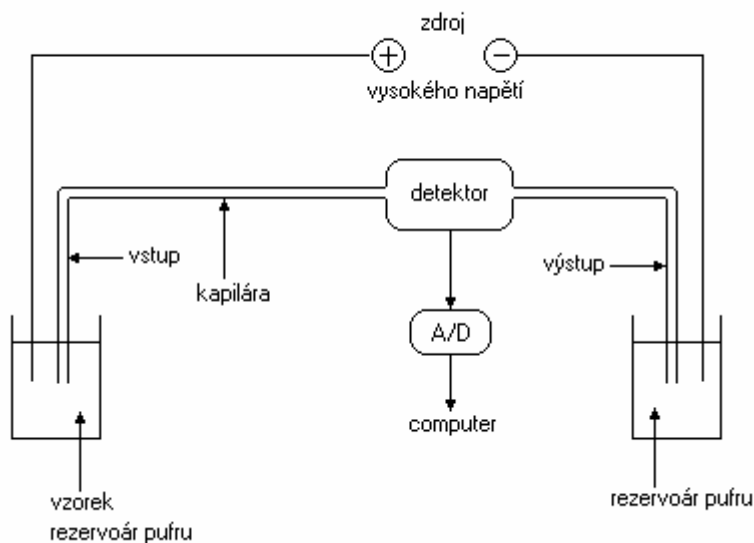
⁸⁸ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 180

⁸⁹ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 33

⁹⁰ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 34–34

⁹¹ SOMMER, L. *Základy analytické chemie II*. 2000. s. 181

⁹² OPEKAR, F., et al. *Základní analytická chemie*. 2007. s. 179



Obrázek č. 11 Schéma CZE⁹³

5.5 Kapilární elektrochromatografie (CEC)

5.5.1 Princip

Jedná se o metodu, která kombinuje principy kapilární elektroforézy a HPLC a umožňuje dělení neutrálních molekul i iontů. Jako kolony se používají kapiláry plněné mikročásticemi stacionární fáze o rozměrech 1,5–5 μm . Kolony mohou být naplněny např. pomocí tlakového plnění suspenzí mikročástic v organickém rozpouštědle nebo v nadkritickém oxidu uhličitém. Tato operace je velice náročná a nesmí při ní vznikat bublinky ani být poškozena křehká kapilára. Jinou metodou plnění je vytvoření náplně polymerací přímo v koloně.

Pro posun mobilní fáze kolonou není používáno čerpadlo jako v HPLC, ale aplikace stejnosměrného napětí a vyvolání elektroosmotického toku. V koloně nastává separace složek na stejných principech, jako v HPLC (separace na obrácených fázích, na normálních fázích, SEC nebo IEC).⁹⁴

5.5.2 Použití CEC

CEC může být využita pro neutrální ale i nabitě látky nejrůznější chemické povahy od jednoduchých molekul po makromolekuly. Je vysoce účinná pro nepatrná množství vzorku. Díky tomu nalézá využití v biochemii, farmakologii, chemii životního prostředí apod.

5.6 Gelová permeační chromatografie (Size Exclusion Chromatography – SEC)

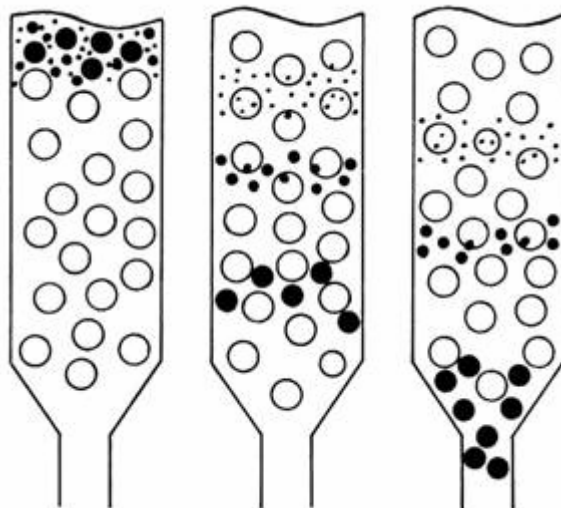
5.6.1 Princip

V SEC jsou molekuly separovány podle své velikosti (viz. obrázek 12). Princip rozdělování je nerovnovážný a nazývá se vylučovací nebo síťový efekt. Dochází k rozdělování látek mezi pohyblivou část mobilní fáze, která se nachází mezi jednotlivými zrny gelu (volný objem

⁹³ Schéma CZE. Dostupné z: <<http://biochemie.sweb.cz/x/metody/elektroforeza.htm>>

⁹⁴ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 38-39

kolony V_0) a nepohyblivou část mobilní fáze, nacházející se uvnitř pórů gelu (objem pórů gelu V_i). Při průchodu kolonou jsou molekuly složek zdržovány v důsledku svého pronikání (permeace) do rozpouštědlem naplněných pórů. Malé molekuly pronikají hlouběji, proto mají vyšší hodnoty retenčních objemů než větší molekuly. Molekuly analytů nereagují se stacionární fází.⁹⁵



Obrázek 12. Princip dělení molekul podle velikosti pomocí SEC⁹⁶

5.6.2 Volba gelu a mobilní fáze

Volba gelu závisí na vlastnostech separovaných látek. Pro látky ve vodě rozpustné se používají hydrofilní gely (např. *Sephadex* – dextran zesíťovaný epichlorhydrinem). Mobilní fází je voda s případným přídavkem organického rozpouštědla. Pro látky nerozpustné ve vodě se používají hydrofobní gely (např. *Styragel* – kopolymery styrenu a divinylbenzenu). Jako mobilní fáze mohou být použity aromatické, chlorované a některé heterocyklické uhlovodíky. Pro separaci hydrofilních i hydrofobních látek jsou vhodné univerzální gely na bázi silikagelu a porézních skel.⁹⁷ Zesíťované agarosové a dextranové gely používané jako stacionární fáze v klasické gelové chromatografii ovšem nevyhovují v podmínkách HPLC (jsou stlačitelné). Pro HPLC byly vyvinuty semirigidní a rigidní náplně.

SEC je vhodná pro vysokomolekulární látky o molekulové hmotnosti větší než 2000, i když jsou separovány molekuly již od molekulové hmotnosti 100. Další možnost využití nalézá SEC při předseparaci komplexních vzorků, při oddělení nízkomolekulárních látek od vysokomolekulárních (gelová filtrace) a zejména při určení molekulové hmotnosti látek.⁹⁸

⁹⁵ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 154-155

⁹⁶ Separací metody v analytické chemii. Dostupné z: <http://tomcat.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/separa.htm>

⁹⁷ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 29

⁹⁸ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 156

5.6.3 Použití SEC ve spojení s ICP-MS

Metodu SEC-ICP-MS použil Reyes a kol. ke stanovení specií selenu ve vzorcích rybí tkáně.⁹⁹ Dále byla metoda SEC-ICP-MS použita ke stanovení selenoaminokyselin v čerstvém mléce. Ve vzorku mléka byl stanoven selenomethionin a selenocystein.¹⁰⁰

5.7 Iontově-výměnná chromatografie (IEC)

5.7.1 Princip

IEC se používá pro dělení složitějších směsí anionů a kationů. Stacionární fázi v iontově-výměnné chromatografii je měnič iontů. Tím je makromolekulární matrice (polystyren, celulóza) s vhodnými funkčními skupinami kyselé nebo zásadité povahy. Každá funkční skupina je pevně vázaným iontem, na kterou je iontovou vazbou připojen protiion s opačným nábojem. Ten je vyměňován iontem obsaženým v mobilní fázi. Podstatou iontové výměny jsou elektrostatické interakce, při nichž rozhodující úlohu má velikost a náboj iontu, jeho koncentrace, relativní permitivita prostředí, iontová síla, disociační konstanta ionogenních skupin měniče i analytu, a tím i pH mobilní fáze.¹⁰¹ Doba setrvání iontů složky na povrchu sorbentu závisí na koncentraci stejně nabitých iontů v mobilní fázi a na jejich afinitě k fixovanému iontovému místu.

5.7.2 Dělení iontoměníčů (ionexů)

▪ Anexy

Jejich funkční skupiny jsou zásadité a slouží k výměně anionů.

Silně bazický anex – jako funkční skupinu obsahuje kvarterní dusíkatou bázi.

Slabě bazický anex – jako funkční skupinu obsahuje primární nebo sekundární amin.

▪ Katexy

Jejich funkční skupiny jsou kyselé a slouží k výměně kationů.

Silně kyselé katex – styren-divinylbenzenový kopolymer obsahující sulfoskupinu.

Slabě kyselé katex – styren-divinylbenzenový kopolymer obsahující karboxylovou skupinu.¹⁰²

Výměnná kapacita iontoměníče se vyjadřuje v molech vyměněných iontů na 1 g iontoměníče. Mezi různými ionty se nejpevněji váže ten, který má největší náboj a objem. Ion s větším objemem je méně hydratován molekulami vody a hydratační obal se při navázání iontů na iontoměníč snáze naruší. Z toho důvodu se na katex lépe váže draselný i vápenatý kation než sodný.

5.7.3 Použití IEC

IEC se používá k separaci látek iontové povahy. Sem patří silné elektrolyty (silné kyseliny, báze nebo soli) i slabé elektrolyty, které lze na iontovou formu převést disociací. Nejčastěji se využívá pro separaci léčiv, nukleových kyselin, aminokyselin, iontů přechodných kovových

⁹⁹ REYES, L.H., et al. Simultaneous determination of As and Se species in fish tissues using microwave-assisted enzymatic extraction and IC-ICP-MS. *Talanta*. 2009 s. 983-990

¹⁰⁰ BIERLA, K., et al. Specific determination of selenoaminoacids in whole milk by 2D size-exclusion-ion-pairing reversed phase HPLC-ICP-MS. *Analytica Chimica Acta*. 2008 s.195-202

¹⁰¹ ŠTULÍK, K. *Analytické separační metody*. 2004. s. 152

¹⁰² VOLKA, K. *Analytická chemie II*. 1995. s. 203

prvků, lanthanoidů, aktinoidů. Jistým problémem je rozšiřování pásů při separaci. Mobilní fázi bývají pufrý. Retence je řízena změnou pH nebo změnou iontové síly pufru. Např. pro separaci anorganických iontů na katexech může být použita gradientová eluce kyselinou methylsírovou nebo chlorovodíkovou. Kovové ionty je možné separovat i na anexech, když jsou předtím převedeny do záporně nabitého komplexu vhodným komplexotvorným činidlem. Naopak aniony schopné tvořit ligandy lze separovat na katexech nasycených kationem kovu (např. Ni^{2+}).¹⁰³

5.7.4 Detekce

Jednoduché ionty se obvykle detekují vodivostními detektory. Vzhledem k vysoce vodivému elučnímu činidlu by citlivost detektoru na ionty vzorku byla snížena. Proto se před detektor předřazuje sekundární kolona (supresor), potlačující jejich účinek. Toto zařízení pracuje dvěma způsoby:

- **Chemické potlačení vlivu iontů (neutralizace)**

Po separaci kationů kyselinou se zařadí anex v podobě mikromembrány, na jejíž povrchu se zachytí anion kyseliny, a kyselý vodík se neutralizuje uvolněným hydroxidovým anionem.

- **Elektrochemické potlačení vlivu iontů**

Využívá elektrodialýzy přes iontově-výměnné membrány, které oddělují katodový a anodový prostor a mezi nimi protéká eluát. Při separaci anionů s elučním činidlem hydroxidem sodným jsou tyto membrány katexové. V anodovém prostoru vzniká elektrolýzou vody kyslík a vodíkový kation. Kation prostupuje membránu a v eluátu neutralizuje hydroxidový anion. V katodovém prostoru vzniká elektrolýzou vody vodík a hydroxidový anion. Sem se dostává z eluátu sodný kation a jako odpad odchází hydroxid sodný. Tím se vlastně eluční činidlo převádí do katodového prostoru. Obdobně při separaci kationtů se eluční činidlo (např. methylsírová kyselina) dostává jako odpad do anodového prostoru přes anexovou membránu.

5.7.5 Použití IEC ve spojení s ICP-MS

Metoda IEC-ICP-MS byla použita k simultánnímu stanovení různých forem arsenu a selenu. Konkrétně se jednalo o specie As(III), As(V), kyselinu dimethylarsinovou, kyselinu methylarsonovou, arsenobetain, Se(IV), Se(VI) a selenomethionin ve vzorcích tkáň žraloka, mečouna a v tuňákové konzervě. V tkáni žraloka byla detekována značná koncentrace As(III). Množství arsenu v rybí tkáni se měnilo v závislosti na typu tkáň, ale ve všech vzorcích byl nejvíce zastoupen arsenobetain (nad 87 %). Ve vzorcích byly nalezeny rovněž nízké koncentrace dimethylarsinové kyseliny, methylarsonové kyseliny a As(V).¹⁰⁴

Iontová chromatografie ve spojení s ICP-MS byla použita také ke stanovení různých forem chromu (III a V)¹⁰⁵ a pro stanovení selenoaminokyselin v česneku a kvasnicích.¹⁰⁶

¹⁰³ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2003. s. 26

¹⁰⁴ REYES, L.H., et al. Simultaneous determination of As and Se species in fish tissues using microwave-assisted enzymatic extraction and IC-ICP-MS. *Talanta*. 2009 s. 983-990

¹⁰⁵ PANTSAR-KALLIO, M., MANNINEN, P.K.G. Speciation of Cr in aquatic samples by coupled column by IC-ICP-MS. *Analytica Chimica Acta*. 1996. s. 335-343

¹⁰⁶ BIRD, S.M., et al. HPLC of selenoamino acids and organo selenium compounds: Speciation by ICP-MS. *Journal of Chromatography A* . 1997. s. 349-359

6 ZÁVĚR

Tato práce se zabývá stanovením různých forem kovů v potravinách pomocí hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem.

Údaj o celkovém obsahu kovu ve zkoumaném materiálu neodpovídá toxicitě ani nevypovídá o esencialitě daného kovu. Prospěšné i toxické účinky kovu závisejí na biologických, chemických a fyzikálních vlastnostech jeho jednotlivých specií. Právě tyto specie (formy) kovu jsou nositelem biodostupnosti příslušného kovu nebo kovové sloučeniny. Celkový toxický účinek je závislý právě na zastoupení jednotlivých forem kovu. Speciační analýza nalézá uplatnění v mnoha rozdílných odvětvích; např. v potravinářském průmyslu, ekotoxikologii, medicíně a klinické chemii, při hodnocení rizik v životním prostředí a průmyslové analýze.

Práce přináší výčet nejčastěji zastoupených kovů v potravinách, ať už esenciálních (Se) nebo toxických (Pb, As, Hg, Cd). Dále se zabývá možnostmi kontaminace potravin těmito kovy. U jednotlivých kovů jsou popsány různé formy, v kterých se vyskytují a je diskutována jejich toxicita nebo esencialita pro lidský organismus.

Práce popisuje metodu ICP-MS, i když ICP-MS není jedinou metodou používanou ke speciační analýze kovů. Mezi další využívané metody patří také atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) nebo atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES). Výhodou použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je možnost multielementárního měření, velmi nízké detekční limity pro stanovení většiny prvků, nízká spotřeba vzorku, možnost zjištění izotopového zastoupení a zejména jednoduché propojení s některou ze separačních technik. Při porovnání s ostatními metodami je ovšem potřeba také zohlednit finanční náročnost techniky ICP-MS, do které se promítá pořizovací a provozní cena, spotřeba argonu, energie a spotřeba superčistých chemikálií. Proto je metoda ICP-MS určena zejména k analýze prvků, které nelze stanovovat jinými spektrometrickými metodami a použití nalézá zejména při stopové a ultrastopové analýze toxických prvků.

ICP-MS se při speciační analýze využívá v on-line spojení s účinnou separační technikou. Vybraná separační technika má za úkol separovat jednotlivé specie kovu nebo alespoň frakce obsahující skupinu specií. Pro on-line spojení s ICP-MS jsou vhodné zejména separační techniky jako GC, LC, HPLC, IEC, SEC, CEC, CZE. Základní principy těchto separačních technik jsou v práci rovněž popsány.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

BIERLA, Katarzyna, SZPUNAR, Joanna, LOBINSKI, Ryszard. Specific determination of selenoaminoacids in whole milk by 2D size-exclusion-ion-pairing reversed phase high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). *Analytica Chimica Acta* [online]. 2008, vol. 624, [cit. 2009-05-19], s. 195-202. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0003-2670.

BIRD, Susan M., et al. High-performance liquid chromatography of selenoamino acids and organo selenium compounds: Speciation by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 1997, vol. 789, is. 1-2 [cit. 2009-01-24], s. 349-359. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0021-9673.

BROWN, Alistair A., EBDON, Les, HILL, Steve J. Development of a coupled liquid chromatography-isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry method for lead speciation. *Analytica Chimica Acta* [online]. 1994, vol. 286, is. 3 [cit. 2009-02-03], s. 391-399. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0003-2670.

CAO, Xuan, et al. Sequential extraction combined with HPLC-ICP-MS for As speciation in dry seafood products. *Food Chemistry* [online]. 2009, vol. 313, is. 2 [cit. 2009-03-01], s. 720-726. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0308-8146.

CARUSO, Joseph A., MONTES-BAYON, Maria. Elemental speciation studies - new directions for trace metal analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2003, vol. 56, is. 1 [cit. 2008-12-20], s. 148-163. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0147-6513.

DONG, Li-Ming, et al. On-line coupling of flow injection displacement sorption preconcentration to high-performance liquid chromatography for speciation analysis of mercury in seafood. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, vol. 1036, is. 2 [cit. 2009-01-10], s. 119-125. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0021-9673.

EGYŮDOVÁ, Iveta, ŠTURDÍK, Ernest. Těžké kovy a pesticidy v potravinách. *Nova Bioechnologica*. 2004, roč. IV, č. 1, s. 155-172. ISSN 1337-8783.

GODULA, M., Firemní prezentace HPST, Současné inovace a trendy ve využití kolizních cel v ICP-MS. Praha, 26. února 2008

HÁJKOVÁ, J. Těžké kovy v životním prostředí a jejich vliv na lidský organismus In SZPI. [online]. 2002, [cit. 2009-02-20]. Dostupné z: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?prn=1&baf=0&nid=11324&doctype=ART&docid=1005761&chnum=1&inqResults=11357>>

Handbook of Hyphenated ICP-MS Applications. USA: Agilent Technologies, 2007 18 s. 67

HIJOVÁ, E., KUČTA, M., NIŠTIAR, F. Kadmium–stále aktuálne riziko v životnom a pracovnom prostredí. In ÁGHOVÁ, Ľubica. *Životné podmienky a zdravie*. Bratislava: Úrad verejného zdravotníctva SR, 2004. Životné prostredie, životný štýl a zdravie obyvateľstva. s. 23-27. ISBN 80-7159-146-7.

CHANG, Lan-Fang, JIANG, Shiuh-Jen, SAHAYAM, A.C. Speciation analysis of mercury and lead in fish samples using liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, vol. 1176, is. 1-2 [cit. 2009-01-18], s. 143-148. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>. ISSN 0021-9673.

CHEN, Jianguo, et al. Determination of ultra trace amount methyl-, phenyl- and inorganic mercury in environmental and biological samples by liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry after cloud point extraction preconcentration. *Talanta* [online]. 2009, vol. 77, is. 4 [cit. 2009-02-21], s. 1381-1387. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>. ISSN 0039-9140.

JARVIS, K.E., GRAY, A.L., HOUK, R.S. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. 1st. printing, 1992. s. 37-38

KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

KOPLÍK, Richard, ČURDOVÁ, Eva, MESTEK, Oto. Specie stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy*. 1997, roč. 91, č. 1, s. 38-47. ISSN 121-7103.

KOTREBAI, Mihály, et al. High-performance liquid chromatography of selenium compounds utilizing perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents and inductively coupled plasma and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, vol. 866, is. 1 [cit. 2008-12-05], s. 51-63. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0021-9673.

MARTÍNEZ-BRAVO, Y., et al. Multielemental determination of arsenic, selenium and chromium (VI) species in water by high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2001, vol. 926, is. 2 [cit. 2008-12-06], s. 265-274. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>. ISSN 0021-9673.

MICHALKE, Bernhard, SCHRAMEL, Peter. Application of capillary zone electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry and capillary isoelectric focusing-inductively coupled plasma mass spectrometry for selenium speciation. *Journal of Chromatography A* [online]. 1998, vol. 807, is. 1 [cit. 2009-02-07], s. 71-80. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>. ISSN 0021-9673.

OPEKAR, František, et al. *Základní analytická chemie*. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova, 2007. 201 s. ISBN 978-80-246-0553-1.

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, Sborník přednášek, Český Těšín: 2 Theta, 1994

OTRUBA, Vítězslav, KANICKÝ Viktor. Spektroskopická společnost Jana Marca Marci. Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. 1997

PALACIOS, Òscar, LOBINSKI, Ryszard. Investigation of the stability of selenoproteins during storage of human serum by size-exclusion LC-ICP-MS. *Talanta* [online]. 2007, vol. 71, is. 4 [cit. 2009-02-15], s. 1813-1816. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0039-9140.

PANTSAR-KALLIO, Mari, MANNINEN, Pentti K.G. Speciation of chromium in aquatic samples by coupled column ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* [online]. 1996, vol. 318, is. 3 [cit. 2008-12-06], s. 335-343. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0003-2670.

Plynová chromatografie. [online]. Poslední revize 15.4.2006 [cit. 2009-03-08]. Dostupné z: <<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:SchemaGC.png>>

PROUSEK, J. *Rizikové vlastnosti látok*. 1. vyd. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 2001. 247 s. ISBN 80-227-1497-6.

REYES, Laura Hinojosa, et al. Simultaneous determination of arsenic and selenium species in fish tissues using microwave-assisted enzymatic extraction and ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* [online]. 2009, vol. 78, is. 3 [cit. 2009-03-01], s. 983-990. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0039-9140.

Schéma spojení HPLC s metodou ICP-MS [online]. [cit. 2009-05-01]. Dostupné z: <<http://www.speciation.net/Public/Document/2007/06/21/2914.html>>

Schéma ICP-MS [online]. [cit. 2009-03-10]. Dostupné z: <<http://www.carlstuart.com/Online-Shop/Chromatography/ICP-MS-Supplies/Description>>

Schéma spojení plynové chromatografie s metodou ICP-MS [online]. [cit. 2009-05-01]. Dostupné z: <<http://www.speciation.net/Public/Document/2007/08/11/2930.html>>

Schéma rozdělení molekul podle velikosti [online]. Poslední revize 29.1.2004 [cit. 2009-03-06]. Dostupné z: <<http://biochemie.sweb.cz/x/metody/elektroforeza.htm>>

SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. 1. vyd. Brno: Vysoké učení technické, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.

ŠALGOVIČOVÁ, Danko, ZMETÁKOVÁ, Zuzana. Arzén, kadmium, ortuť a olovo v potravinách v obchodnej sieti v Slovenskej republike In *Bezpečnosť a kontrola potravín, IV. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou*. [online]. Nitra, 2007, [cit. 2009-03-01]. Dostupné z: <http://enviroportal.sk/ism/pdf/cudzorode-latky/As_Cd_Hg_Pb_MSK.pdf>

ŠEVČÍK, Jiří G.K. *Plynová chromatografie a její aplikace v organické analýze* [online]. [citováno 3.prosince 2008]. Dostupné z: <http://www.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn_chrom.pdf>

ŠÍMA, Jan. *Separační metody v analytické chemii* [online]. Poslední revize 3.8.2005 [cit. 2009-02-16], Dostupné z: <http://tomcat.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/separa.htm>

ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova, 2004. 264 s. ISBN 80-246-085-9.

The 30-Minute Guide to ICP-MS [online]. USA: PerkinElmer Instruments, 2001. 8 s. [citováno 11.listopadu 2008]. Dostupné z: <http://las.perkinelmer.com/content/technicalinfo/tch_icpmsthirtyminuteguide.pdf>

VAN DEN BROECK, Kristel, VANDECASTEELE, Carlo, GEUNS, Jan M.C. Speciation by liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry of arsenic in mung bean seedlings used as a bio indicator for the arsenic contamination. *Analytica Chimica Acta* [online]. 1998, vol. 361, is. 1-2 [cit. 2008-12-02], s. 101-111. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. ISSN 0003-2670.

VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 320 s. ISBN 80-86659-01-1.

VITOULOVÁ, E. ICP-MS In *Praktikum z instrumentální a strukturní analýzy* [online]. [cit. 2009-02-11]. Dostupné z WWW: <https://smetana.fch.vutbr.cz/r_studenti/PREDMETY_CZ/MCA_ISA_P/PISA%202008_n%C3%A1vody/PISA_08_2_ICP%20MS.pdf>

VOLKA, Karel. *Analytická chemie II*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. 236 s. ISBN 80-7080-227-8.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

CE	Kapilární elektroforéza (Capillary Electrophoresis)
CEC	Kapilární elektrochromatografie (Capillary Electrochromatography)
CZE	Kapilární zónová elektroforéza (Capillary Zone Electrophoresis)
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
GPC (SEC)	Gelová permeační chromatografie (Size Exclusion Chromatography)
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
IEC	Iontově výměnná chromatografie (Ion Exchange Chromatography)
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry)
LC	Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography)
CIEF-ICP-MS	Kapilární izoelektrická fokusace s indukčně vázaným plazmatem (Capillary Zone Electrophoresis-Inductively coupled plasma mass spectrometry)
ICP-AES	Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission spectrometry)

9 SEZNAM POUŽITÝCH PŘÍLOH

Tabulka 1 Separační techniky kombinované s ICP-MS za účelem speciální analýzy

Tabulka 2 Seznam použitých zkratk

Tabulka 3 Obsah kobaltu, manganu a chromu v potravinách

Tabulka 4 Obsah olova, rtuti, kadmia a arsenu ve významných potravinových surovinách a potravinách

Tabulka 5 Obsah selenu ve významných potravinových surovinách a potravinách z různých zemí

Tabulka 6 Prvky stanovené pomocí ICP-MS a jejich přibližné detekční limity

10 PŘÍLOHY

Tabulka 1 Separační techniky kombinované s ICP-MS za účelem speciální analýzy

Analyzovaný prvek	Analyzovaná speciace	Typ vzorku	Použitá metoda	Citace
As	As(III), As(V), DMA, MMA	Sazenice fazolí	LC-ICP-MS	[Van den Broeck, K. et al., 1998]
As	As(III), As(V), DMA, MMA, AsB, AsC	Sušené plody moře	Postupná extrakce v kombinaci s HPLC-ICP-MS	[Cao, X. et al., 2009]
As/Se	As(III), As(V), DMA, MMA, AsB, Se(IV), Se(VI), SeMet	Rybí tkáň	IC-ICP-MS SEC-ICP-MS	[Reyes, L.H. et al., 2009]
As/Se/Cr	As (III), DMA, MMA, As (V), Se(IV), Se(VI), Cr(VI)	Voda	HPLC-ICP-MS	[Martínez-Bravo, Y. et al., 2001]
Hg	Hg(II), MeHg	Rybí tkáň	HPLC-ICP-MS	[Chen, J. et al., 2009]
Hg/Pb	Pb(II), trimethyl-Pb, triethyl-Pb, MeHg, EtHg	Biologická tkáň	LC-ICP-MS	[Chang, L.F. et al., 2007]
Cr	Cr(III), Cr(VI)	Voda	IC-ICP-MS	[Pantsar-Kallio, M. et al., 1996]
Se	Anorganický Se, 23 odlišných selenoaminokyselin	Přírodní vzorky obohacené o Se, česnek a cibule obohacené o Se	HPLC-ICP-MS HPLC-ESI-MS	[Kotrebai, M. et al., 2000]
Se	Selenoaminokyseliny	Kvasnice a česnek obohacené o Se	Iontově výměnná HPLC-ICP-MS	[Bird, S.M. et al., 1997]
Pb	Pb(II), trimethyl-Pb, triethyl-Pb	Dešťová voda	LC-ID-ICP-MS	[Brown, A.A. et al., 1994]

*Použité zkratky jsou vysvětleny v tabulce 2.

Tabulka 2 Seznam použitých zkratk

DMA	dimethylarsinová kyselina
MMA	methyларsonová kyselina
AsB	Arsenobetain
AsC	Arsenocholin
SeMet	Selenomethionin
MeHg	Methylrtuť
EtHg	Ethylrtuť
LC-ICP-MS	Kapalinová chromatografie s indukčně vázaným plazmatem
HPLC-ICP-MS	Vysoce účinná kapalinová chromatografie s indukčně vázaným plazmatem
IC-ICP-MS	Iontová chromatografie s indukčně vázaným plazmatem
SEC-ICP-MS	Gelová permeační chromatografie s indukčně vázaným plazmatem
HPLC-ESI-MS	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostním detektorem s elektrosprejovou ionizací
LC-ID-ICP-MS	Kapalinová chromatografie s izotopovým zředováním ve spojení s indukčně vázaným plazmatem

Tabulka 3 Obsah kobaltu, manganu a chromu v potravinách [VELÍŠEK, J., 2002]

Potravina	Obsah v mg·kg ⁻¹		
	Co	Mn	Cr
maso vepřové	< 0,001-0,012	< 0,1	< 0,01-0,09
maso hovězí	0,001-0,02	< 0,1	< 0,01-0,05
maso kuřecí	< 0,01	< 0,1-0,14	0,01-0,08
játra vepřová	0,002-0,023	2,0	0,003-0,16
ryby	< 0,001-0,012	< 0,1	0,002-0,23
mléko plnotučné	0,0004-0,0011	0,1-0,07	0,002-0,02
tvářoh	0,005	0,03-0,05	0,02
sýry	0,01	0,05-0,1	0,01-0,13
jogurt	< 0,005	< 0,05	0,005-0,04
vejce slepičí	0,001-0,04	< 0,05	0,005-0,02
vaječný bílek	-	-	-
vaječný žloutek	-	-	-
pšenice	0,007-0,089	0,1-0,8	0,007-0,06
mouka pšeničná	0,005-0,09	0,1-0,3	0,010-0,03
chléb celozrnný	0,01-0,05	< 0,2	0,01-0,13
rýže loupaná	0,01-0,02	0,1-0,3	0,01-0,03
hrách	0,013-0,2	0,1-2,6	0,02-0,09
čočka	0,016-0,092	2,0-10	0,048-0,054
fazole	0,01-0,3	1,03,0	0,05-0,10
sója	0,05-0,14	< 0,06-10	0,05-0,08
zelí	< 0,001-0,01	< 0,1	0,001-0,03
květák	0,001-0,01	< 0,1	0,001-0,01
špenát	0,001-0,02	< 0,006-0,10	0,01-0,12
hlávkový salát	< 0,001-0,006	< 0,1	0,005-0,08
rajčata	< 0,005	< 0,005-0,09	0,002-0,01
mrkev	0,001-0,005	< 0,006-0,06	0,001-0,13
hrášek	0,002-0,01	0,2	0,005-0,04
cibule	0,001-0,01	< 0,006-0,06	0,005-0,02
brambory	0,002-0,02	0,01-0,09	0,002-0,035
jablka	< 0,001-0,005	< 0,1	0,003-,03
pomeranče	0,001-0,01	< 0,1	< 0,001-0,02
banány	< 0,001-0,002	< 0,1	0,02-0,05
jahody	< 0,001-0,01	< 0,1	< 0,002-0,02
ořechy vlašské, lískové	0,008-0,29	< 0,2	0,08-0,29
čaj černý	0,60-1,0	0,13	0,62-2,6
káva pražená	0,34-0,88	< 0,2	0,01-0,05
čokoláda mléčná	0,34	< 0,2	0,04-0,1

Tabulka 4 Obsah olova, kadmia, rtuti a arsenu ve významných potravinových surovinách a potravinách [VELÍŠEK, J., 2002]

Potravina	Obsah v mg·kg ⁻¹			
	Pb	Cd	Hg	As
maso vepřové	0,005-0,05	0,001-0,01	0,002-0,006	0,003-0,03
maso hovězí	0,004-0,07	< 0,01-0,01	0,001-0,003	0,001-0,07
maso kuřecí	0,008-0,04	0,001-0,005	0,01-0,002	0,001-0,03
játra vepřová	0,014-0,04	0,025-0,10	0,007-0,014	0,005-0,02
játra hovězí	0,01-0,42	0,0-0,17	0,001-0,005	0,005-0,07
ledviny vepřové	0,01-0,04	0,07-0,52	0,011-0,015	0,01
ledviny hovězí	0,06-0,22	0,6-2,0	0,003-0,014	0,02-0,13
ryby mořské	0,01-0,14	0,001-0,07	0,03-0,85	0,50-1,4
ryby sladkovodní	0,01-0,05	0,001-0,0052	0,07-1,01	0,03-0,56
mléko plnotučné	0,001-0,002	< 0,0001-0,001	< 0,001	< 0,001-0,003
tvoroh	0,02	< 0,002	< 0,001	0,01
sýry	0,01-0,06	0,005-0,02	< 0,002	< 0,002-0,025
jogurt	0,01-0,03	0,001-0,003	< 0,001	< 0,005
vejce slepičí	0,001-0,01	0,001-0,01	0,005-0,008	< 0,002-0,01
pšenice	0,02-0,65	0,02-0,35	0,0001-0,006	0,005-0,29
mouka pšeničná	0,004-0,05	0,01-0,09	0,002-0,004	0,01-0,17
chléb celozrnný	0,012-0,013	0,02-0,05	0,001-0,006	0,006-0,05
rýže loupáná	0,003-0,08	0,004-0,14	0,002-0,008	0,04-0,31
žito	0,01-0,17	0,004-0,04	0,002-0,007	0,03-0,10
ječmen	0,03-0,27	0,004-0,04	0,001-0,006	0,005-0,38
oves	0,03-0,30	0,004-0,07	0,0001-0,008	0,01-0,54
hrách	0,01-0,43	0,01-0,03	0,002-0,02	0,01-0,05
fazole	0,02-0,10	0,003-0,02	0,004-0,02	< 0,01
sója	< 0,002-0,32	0,04-0,09	< 0,004	0,03-0,05
zelí	0,002-0,042	0,01-0,017	0,0003-0,001	< 0,01
květák	0,002-0,02	0,002-0,02	0,0004-0,002	0,002-0,01
špenát	0,01-0,29	0,01-0,35	< 0,001-0,008	0,005-0,02
hlávkový salát	0,003-0,25	0,002-0,16	0,0005-0,01	0,002-0,14
rajčata	< 0,001-0,04	0,002-0,05	0,0001-0,008	< 0,001-0,002
mrkev	0,004-0,21	0,003-0,16	0,0006-0,005	0,003-0,11
hrášek	0,01-0,02	0,001-0,03	0,0005-0,002	0,01
cibule	< 0,001-0,05	0,004-0,05	< 0,001	0,01
brambory	0,006-0,04	0,002-0,06	0,0001-0,017	< 0,001-0,04
houby	0,01-0,20	0,01-0,33	0,07-0,22	0,01
jablka	0,01-0,05	0,001-0,002	0,0003-0,002	0,001-0,22
pomeranče	0,005-0,07	0,001-0,007	< 0,001	0,004-0,02
banány	0,02-0,05	< 0,002	0,001-0,002	0,04-0,09
jahody	0,00-0,09	0,001-0,03	0,0002-0,001	< 0,005
čaj černý	0,07-1,29	0,005-0,12	0,007-0,025	0,05-0,40
káva pražená	0,02-0,05	0,003-0,007	< 0,004	0,05-0,22
kakao	0,03-0,07	0,095-0,17	< 0,004	0,10
čokoláda mléčná	0,05	0,005-0,01	0,002-0,004	< 0,05

Tabulka 5 Obsah selenu ve významných potravinových surovinách a potravinách z různých zemích [VELÍŠEK, J., 2002]

Potravina	Obsah Se v mg·kg ⁻¹				
	USA ^{a)}	Kanada ^{a)}	Venezuela	Německo	ČR a SR
maso vepřové	0,04-0,24	0,31	0,83	0,19	0,02-0,07 ^{b)}
maso hovězí	0,06-0,27	-	0,17	-	0,02
maso kuřecí	0,10-0,12	-	-	-	0,07-0,11
játra vepřová	0,64-0,70	0,36	0,36	0,17	0,09-0,34
játra hovězí	0,43	0,50	0,69	0,09	0,02-0,14
ledviny vepřové	1,90-2,21	3,22	-	0,78	0,97-1,84
ledviny hovězí	1,45-1,70	2,31	-	0,95	0,20-1,02
ryby sladkovodní	0,34-0,37	0,59	-	0,38	0,05-0,38
ryby mořské	0,12-1,41	0,75-1,48	-	-	-
mléko plnotučné	0,06	0,15	-	0,20	0,003
tvářoh	-	0,07	0,43	-	-
sýry	0,09	-	-	-	0,02-0,04 ^{b)}
jogurt	0,05	-	1,52	-	0,004-0,008 ^{b)}
vejce slepičí	0,10	0,39	-	-	0,18-0,24
vaječný bílek	0,03-0,05	0,12-0,15	-	-	0,06
vaječný žloutek	0,13-0,18	0,13-0,69	0,25	-	0,53
pšenice	0,20-0,61	0,58-1,09	-	0,34-0,88	-
mouka pšeničná	0,18-0,52	0,28-0,64	-	-	0,016
chléb celozrnný	0,33-0,41	0,59-0,68	0,46	-	0,015-0,026 ^{b)}
rýže loupaná	0,21-0,38	-	-	-	0,024-0,034 ^{b)}
žito	0,36	-	-	-	-
čočka	-	0,61	-	0,10	0,03-0,08 ^{b)}
hrách	-	-	0,07	-	0,02
fazole	0,02-0,13	0,06	0,01	-	0,09
sója	0,08-0,48	0,09	-	-	-
zelí	0,023	0,03	0,01	0,014	0,003
květák	0,007	0,004	-	0,014	0,005
špenát	0,012	-	-	0,018	-
hlávkový salát	0,001-0,011	0,008	0,014	0,006	0,001 ^{b)}
rajčata	0,005	0,001	-	0,007	0,001 ^{b)}
mrkev	0,022	0,006	-	0,004	0,001-0,003 ^{b)}
hrášek	-	-	-	-	0,005
cibule	-	-	-	-	0,003
česnek	0,014-0,26	0,07	-	-	0,03-0,14
brambory	0,002-0,055	0,023	0,016	0,017	0,003-0,018
jablka	0,005	0,004	0,006	0,01	0,001-0,003 ^{b)}
pomeranče	0,013	0,015	0,008	0,029	-
banány	0,01	-	0,005-0,06	-	-

^{a)} Vzorčky jsou z oblasti se středním obsahem selenu v půdě. ^{b)} Údaje ze Slovenské republiky.

Tabulka 6 Prvky stanovené pomocí ICP-MS a jejich přibližné detekční limity

[Dostupné z:

<http://las.perkinelmer.com/content/technicalinfo/tch_icpmsthirtyminuteguide.pdf>]

